

616.12 (043.2)

BUR

MON

T

FACULTAD DE MEDICINA = UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

"MONITORIZACION CONTINUA DEL pH MIOCARDICO DURANTE LA PARADA
CARDIACA ISQUEMICA. SU IMPORTANCIA PARA LA EVALUACION DE LAS
DIFERENTES SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS. ESTUDIO EXPERIMENTAL"

Trabajo presentado para aspirar
al Grado de Doctor por

D. RAUL-JOSE BURGOS LAZARO

Bajo la dirección del Profesor

Dr. D. DIEGO FIGUERA AYMERICH

MADRID, 1990.

Reg. F. R. 10.037

UNIVERSIDAD
AUTONOMA
DE MADRID
1991/10/11

CLINICA PUERTA DE HIERRO

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES MEDICO-QUIRURGICAS DE LA SEGURIDAD SOCIAL

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

Prof. D. Figuera

Catedrático de Patología Quirúrgica

PROF. DIEGO FIGUERA AYMERICH, CATEDRATICO DE PATOLOGIA QUIRURGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID, JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGIA Y DEL SERVICIO DE CIRUGIA CARDIOVASCULAR Y TORACICA DE LA CLINICA PUERTA DE HIERRO,

CERTIFICA: Que D. Raúl-José Burgos Lázaro, ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado: " MONITORIZACION CONTINUA DEL pH MIOCARDICO DURANTE LA PARADA CARDIACA ISQUEMICA. SU IMPORTANCIA PARA LA EVALUACION DE LAS DIFERENTES SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS. ESTUDIO EXPERIMENTAL", que reúne los requisitos necesarios para la obtención del grado de Doctor.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Madrid a seis de junio de mil novecientos noventa.

Fdº: Prof. Diego Figuera



Este trabajo ha sido íntegramente realizado en el laboratorio de Cirugía Experimental de la Clínica de Puerta de Hierro de Madrid, con la participación de los Servicios de Anatomía Patológica, Bioquímica y Bioingeniería.

Ha sido subvencionado con una ayuda del FONDO DE INVESTIGACIONES SANITARIAS DE LA SEGURIDAD SOCIAL (FISS). Proyecto 83/0673.

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral
con la censura de Opto cum laude por unanimidad
Madrid, Trece de Julio 1976

Indurayen
Vincent

lclm
8 de 07

M. J. J. J. J.

A mis Padres

A Asun y nuestra hija Natalia

A G R A D E C I M I E N T O S

Poner fin a una larga y ardua labor de Investigación, como supone la elaboración de una Tesis Doctoral, se acompaña siempre de una gran alegría y de un íntima satisfacción. Es entonces cuando uno se da cuenta de lo mucho que ha significado la ayuda y presencia de todas aquellas personas sin cuyo aliento, orientación y cooperación no hubiese permitido alcanzar la meta final.

A estas personas quiero dejar aquí constancia de mi agradecimiento.

En primer lugar, al profesor Diego Figuera Aymerich, que ha iniciado mis pasos en el fascinante camino de la Investigación y en práctica de la Cirugía, encontrándose siempre dispuesto para ofrecer su inestimable ayuda, y que con su gran saber y experiencia me ha aconsejado durante todo el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Al Dr. Jose Luis Castillo-Olivares, que ha puesto a mi disposición el Servicio de Cirugía Experimental de la Clínica Puerta de Hierro, siendo pródigo en ideas y generoso en su colaboración a lo largo de mi estancia en el Servicio. Mi agradecimiento por haberme permitido trabajar en el Servicio de Cirugía Experimental de la Clínica Puerta de Hierro.

A los Dres. Inmaculada Vegazo, Luis Santamaría y Fernando Burgos por la ardua labor en la preparación y estudio de las biopsias miocárdicas así como su ayuda en la confección de las tablas de lesiones histológicas.

Al Dr.Fernandez Garnica y al Servicio de Bioquímica de la Clinica Puerta de Hierro, por su labor en la preparación y estudio de los parámetros bioquímicos que aparecen es este estudio.

A la Srta.Isabel Millan por su trabajo en la elaboración de los datos estadísticos.

A las Srtas.Manuela Ruiz, Angeles Garzon y Elvira de la Puerta por su paciente trabajo en la ordenación del manuscrito.

A D.Fernando Sanz, fotografo de la Clinica Puerta de Hierro, por su colaboración en el aspecto fotográfico de este trabajo.

Finalmente a todos mis compañeros de Cirugía Cardiovascular que siempre han estado dispuestos a facilitarme su ánimo y cooperación.

A todos ellos, mi mas sincero agradecimiento.

I N D I C E

	<u>Págs.</u>
<u>INTRODUCCION HISTORICA</u>	1 - 7
<u>FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA MIOCARDICA</u>	8 - 34
NATURALEZA DE LA ISQUEMIA	8 - 9
PROCESO ISQUEMICO	9 - 10
ALTERACIONES INMEDIATAS	10 - 11
ALTERACIONES PRECOCES	11 - 16
SECUENCIA FISIOPATOLOGICA DE LA ISQUEMIA	
MIOCARDICA	17 - 20
ALTERACIONES TARDIAS.....	20 - 22
MANIPULACION DEL PROCESO ISQUEMICO	23
REVERSIBILIDAD E IRREVERSIBILIDAD DE LA	
LESION TISULAR	23 - 24
NATURALEZA DE LA REPERFUSION	24 - 25
CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES	25 - 26
CARACTERISTICAS FUNCIONALES	26 - 27
CARACTERISTICAS METABOLICAS	28 - 34
<u>CONTRACTURA ISQUEMICA DEL CORAZON "STONE HEART"....</u>	35 - 40
CARACTERISTICAS CLINICAS	35 - 36
HALLAZGOS PATOLOGICOS	36 - 37
TRATAMIENTO	37
ETIOPATOGENIA	37 - 40

PRINCIPIOS DE LA CARDIOPLEJIA EN LA PROTECCION

<u>MIOCARDICA</u>	41	-	58
-------------------------	----	---	----

REQUISITOS PARA EL USO CLINICO DE UNA SOLU- CION CARDIOPLEJICA	42	-	43
COMPOSICION DE LAS SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS..	43	-	47
CARDIOPLEJIAS OXIGENADAS	47	-	51
ESTRATEGIA QUIRURGICA	51	-	56
REVERSIBILIDAD DE LA LESION MIOCARDICA	56	-	58

<u>LA HIPOTERMIA COMO METODO DE PROTECCION MIOCARDIA..</u>	59	-	81
--	----	---	----

INTRODUCCION	59	-	62
CAMBIOS BIOFISICOS Y QUIMICOS	62	-	74
TEMPERATURA OPTIMA PARA LA PRESERVACION DEL MIOCARDIO DURANTE LA PARADA ISQUEMICA QUI- RURGICA ANOXICA	75	-	81

<u>PROPOSITO DEL TRABAJO</u>	82	-	84
------------------------------------	----	---	----

<u>MATERIAL Y METODOS</u>	85	-	105
---------------------------------	----	---	-----

SELECCION DEL ANIMAL DE EXPERIMENTACION	85		
TECNICA ANESTESICA	85	-	86
TECNICA QUIRURGICA	86	-	89
INFUSION DE LAS DIFERENTES SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS	89	-	91

MONITORIZACION DE LA TEMPERATURA MIOCARDICA...	91	-	92
MONITORIZACION DEL pH	92		
MONITORIZACION DE LA CONTRACCION MIOCARDICA ..	92	-	93
MEDIDA DEL GASTO CARDIACO POSTOPERATORIO	93	-	95
ESTUDIOS METABOLICOS (ADENOSIN-TRIFOSFATO Y CREATIN-FOSFATO)	95	-	96
ESTUDOS ANATOMOPATOLOGICOS	96	-	98
VALORACION ANATOMOPATOLOGICA	99		
FIGURA (2 - 6)	100	-	104
<u>RESULTADOS</u>	105	-	151
ANALISIS ESTADISTICO	105		
RESULTADOS BIOQUIMICOS	105	-	107
RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS	107	-	108
ESTUDIO DEL RECALENTAMIENTO MIOCARDICO	108	-	109
ESTUDIO DEL pH MIOCARDICO	109	-	110
RESULTADOS MANOMETRICOS DE LA CONTRACCION MIOCARDICA	110	-	111
RESULTADOS DEL GASTO CARDIACO POSTREPERFUSION.	111		
TABLAS (1 - 9)	112	-	120
FIGURAS (7 - 24)	121	-	138
GRAFICOS (1 - 13)	139	-	151
<u>DISCUSION</u>	152	-	173
CONSERVACION DE LA ENERGIA	153		

HIPOTERMIA	154	
CAMBIOS GENERADOS DURANTE LA ISQUEMIA	154	- 156
ASPECTOS CRITICOS DE LA INJURIA ISQUEMICA	156	- 160
LESION MIOCARDICA RELACIONADA CON LOS		
RADICALES LIBRES DE OXIGENO	160	- 161
ADITIVOS USADOS EN LAS SOLUCIONES CARDIO-		
PLEJIAS	161	- 163
HIPOTERMIA	163	- 165
pH MIOCARDICO	165	- 173
 <u>CONCLUSIONES</u>	 174	 - 176
 <u>RESUMEN</u>	 177	 - 179
 <u>BIBLIOGRAFIA</u>	 180	 - 213

INTRODUCCION HISTORICA

Para entender
la necesidad de
comprender desde
la perspectiva
través de los años.

El análisis
comienza en el
análisis de la
situación actual
del país.

En la historia
del país
se han dado
varios hitos
que han marcado
el desarrollo
del país.

En la historia
del país
se han dado
varios hitos
que han marcado
el desarrollo
del país.

INTRODUCCION HISTORICA

INTRODUCCION HISTORICA.

Para situar a la cardioplejia en su perspectiva histórica, es necesario revisar el desarrollo de la cirugía cardiaca extracorpórea desde sus inicios hasta la actualidad, haciendo hincapié en la protección miocárdica que han efectuado los cirujanos a través de los años.

El inicio clínico de la cirugía cardiaca extracorpórea comienza en Chicago con Lewis y Taufic, en 1953 (1), al cerrar un defecto interauricular efectuando una moderada hipotermia sistémica con enfriamiento corporal de superficie.

Una vez que las técnicas de circulación extracorpórea resolvieron el problema de mantener la circulación cerebral durante la parada cardiaca, surgió el conflicto entre las necesidades del cirujano de conseguir un campo quirúrgico exangüe, el corazón quieto y el tiempo suficiente para completar los procedimientos quirúrgicos, y por otra parte las necesidades metabólicas continuas del miocardio de oxígeno y de substratos.

En los comienzos de la cirugía cardiaca abierta, se conseguía un campo quirúrgico exangüe, mediante la oclusión temporal de cavas y aorta. Durante el tiempo de la parada circulatoria se conseguía la viabilidad del cerebro y otros órganos, reduciendo las demandas energéticas con una hipotermia sistémica moderada

de (30⁰ C).

Esta técnica tuvo como base los trabajos experimentales de Bigelow (2,3) en Toronto, aunque los primeros en aplicarla clínicamente fueron Lewis, Taufic, y Swan (1). El factor limitante de esa técnica era el tiempo. Aproximadamente unos 10 minutos de interrupción de la circulación era posible sin que se produjeran daños cerebrales irreversibles. Durante este tiempo el cirujano debía abrir el corazón, corregir el defecto cardiaco, cerrarlo y conseguir un latido cardiaco efectivo.

Posteriormente, en el año 1955, Melrose y Bentall (4,5,6) en el "Postgraduate Medical School" en Londres, introducen el concepto de "Parada cardiaca electiva". Después de la oclusión de la raíz aórtica y de la inyección rápida de una solución de citrato potásico en sangre al 2.5% en la raíz aórtica, se conseguía una parada cardiaca rápida. Estos autores habían comprobado experimentalmente este hecho en corazones de animales y vieron que después de despinzar la raíz aórtica, y cuando la solución de potasio había sido "lavada" por el lecho coronario, la flácida asistolia ventricular recobraba el latido cardiaco normal. Posteriormente este método que se inició en Londres, pasó a USA y fue utilizado en 1958, en San Francisco por Gerbode y Melrose (7).

Sealy (8,9) en 1958 combinó este método con la hipotermia sistémica profunda, siendo mas segura desde el punto de vista clínico. A finales de los años 1960, Helmsworth (10,11) comunicó lesiones miocárdicas experimentales con el citrato potásico. Pero fueron sin embargo los trabajos de Mc Farland (12) en el National Heart Institute Bethesda los que demostraron áreas de necrosis en corazones de enfermos que habían sido tratados con este método y que habían fallecido, lo que hizo que esta técnica fuese desplazada.

Con el abandono de la cardioplejia, la técnica de la perfusión coronaria llegó a ser de elección como método de preservación miocárdica. Si no existía insuficiencia aórtica el corazón se mantenía latiendo con la perfusión sanguínea efectuada a través de la raíz aórtica, si era preciso abrir la raíz aórtica la perfusión coronaria se efectuaba a través de cánulas intruducidas en los orificios coronarios. El concepto de perfusión continua del miocardio se aceptó sin titubeo. La mortalidad peroperatoria mejoró en la década de los 60 y el inicio de los años 70. Sin embargo, a finales de los años 60 comenzaron a aparecer trabajos llamando la atención sobre necrosis subendocárdicas sobre el ventrículo izquierdo, (sobre todo en ventrículos muy hipertrofiados) y síndromes de bajo gasto postoperatorio que en muchas ocasiones conducían a la muerte del paciente. (13,14,15-16,17,18,19).

En un intento de descubrir las razones de esta selectiva lesión miocárdica, la atención volvió hacia la distribución del flujo coronario particular de esta zona del endocardio sobre el total del flujo coronario. La participación de la distribución del flujo coronario fué investigado por Hoffman (13) en San Francisco, utilizando microesferas radiactivas, posteriormente Buckberg (13,14) demuestra con esta técnica que la isquemia subendocárdica ocurre en el ventrículo izquierdo cuando disminuía el flujo sanguíneo coronario durante la diástole, esta circunstancia se produce cuando hay una disminución de la tensión arterial diastólica, si aumenta la tensión diastólica final del ventrículo izquierdo, o si el tiempo diastólico está acortado. Estos autores pusieron de resalte que la necrosis subendocárdica se agravaba si en el corazón hipertrófico se producía una fibrilación ventricular. Bajo estas condiciones la sangre derivaba fuera del endocardio, además las resistencias al flujo coronario aumentan a medida que progresa el tiempo de fibrilación ventricular, favoreciendo la necrosis endocárdica y consecuentemente produciendo una severa depresión de la función ventricular. Estos estudios hicieron que este método fuera progresivamente abandonado.

A lo largo de los años 1950, hubo un entusiasmo general por el corazón latiendo y normotérmico. Sin embargo Shumway (20,21) persistió en el concepto de isquemia miocárdica para conseguir

un campo quirúrgico exangüe protegiendo el corazón con hipotermia local. Para conseguir esto, llenaba el saco pericárdico con suero salino frío. Por esta razón la hipotermia profunda tópica del corazón siempre se ha asociado al nombre de Shumway (22). La temperatura miocárdica caía entre 15 y 20° C, pero con el inconveniente que existía un gradiente de 5° C, entre el epicardio y el endocardio; esta diferencia se reducía llenando las cavidades cardiacas con suero frío. La alternativa al enfriamiento del corazón era la infusión de soluciones frías directamente en las arterias coronarias. Sin embargo este método no fue adoptado clínicamente en esta época. Bernhard (23) demuestra que con la infusión coronaria de sangre fría obtenía una temperatura miocárdica de 20° C, consiguiendo una hora y media de parada isquémica en corazones de perros, pero no fue hasta 1974 en que Tyers (24) usó experimentalmente una solución a 4° C con similares resultados. Cuando la cardioplejia comenzó a resurgir en popularidad, varios cirujanos fueron excépticos en utilizar iones productores de asistolia en las soluciones hipotérmicas y solo infundían Ringer Lactato a 4° C, en la creencia de que los efectos hipotérmicos eran solo lo que protegía el miocardio.

En el año 1966 Cooley (25,26) y colaboradores comprobaron que el miocardio del perro y del hombre sufre lesiones después de una hora de isquemia a temperatura normal pero que en un alto porcentaje de casos vuelve a la normalidad. Por esta razón Cooley (27) propuso el término isquemia normotérmica ocluyendo la aorta

a temperatura normal durante el periodo de circulación extracorpórea. El tiempo promedio de oclusión fué de 38 minutos, variando entre media hora y hora y media. Al menos el 90% de los enfermos sobrevivieron y no encontraron diferencias significativas en terminos enzimáticos o ultraestructurales entre los pacientes que habían recibido perfusión coronaria y los que habían tenido parada isquémica normotérmica. Esta técnica tiene el inconveniente de la limitación del tiempo, de tal forma que por encima de 30-40 minutos de parada normotérmica el riesgo de lesiones es alto, sobre todo en los corazones hipertróficos. Por esta razón no es sorpresivo que fuese Cooley el primero en describir la contractura isquémica miocárdica "stone-heart".(27)

Posteriormente volvió la parada cardiaca electiva "cardioplejia" y fué aceptada y confirmada.

El concepto de cardioplejia surgió en Alemania . Hölscher (28) publicó un trabajo experimental en el que comunicaba varias formas de inducir parada cardiaca pero fueron los trabajos de Bretschnider y Spieckermann (29,30,31) los que originaron el inicio clínico y la nueva era de la cardioplejia.

Bretschnider publicó una solución hipotérmica que era capaz de producir una parada cardiaca electiva. Se caracterizaba por su contenido pobre en sodio, calcio libre y procaína; la concentración pobre en sodio (igual a la concentración de sodio

intracelular) debería impedir los potenciales de excitación, los iones de calcio libre prevenían la activación del sistema contráctil cardíaco y la procaína estabilizaba las membranas celulares. Kirsch (32) en la Clínica Universitaria de Hamburgo trabajó en la idea de que los agentes cardiopléjicos no deberían contener componentes que estimulasen la depresión de los fosfatos de alta energía y la activación de las fosforilasas. Posteriormente Hearse (33) trabajando en el Hospital St. Thomas, en Londres, llegó a la conclusión de que las soluciones cardiopléjicas deberían alterar en lo menos posible la concentración iónica del compartimento extracelular en relación con el intracelular, por esta razón, propuso la solución del St. Thomas. Roe (34), en 1973, propuso la cardioplejia inducida por potasio. Tyers (35), en 1977, publicó 100 pacientes en los que la protección miocárdica se había efectuado con cardioplejia con una concentración isotónica y rica en potasio. Se perfundió a 15⁰ C, y observó que la mitad de los casos se habían desfibrilado espontáneamente, disminuyendo el uso de vasopresores postoperatorios, y mejorando el gasto cardíaco postoperatorio, así como los niveles séricos de enzimas miocárdicas.

Καρδίαρχον

FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA

La isquemia es un trastorno de la circulación sanguínea que produce una disminución del flujo de sangre hacia un tejido. Esto puede ser causado por una obstrucción de un vaso sanguíneo, como un coágulo de sangre o una placa de ateroma, o por una constricción de un vaso sanguíneo, como en el caso de la hipertensión arterial. La isquemia puede ser aguda o crónica, dependiendo de la duración de la disminución del flujo sanguíneo.

EFECTOS DE LA ISQUEMIA

La isquemia puede causar una serie de efectos en el tejido afectado, dependiendo de la gravedad y la duración de la disminución del flujo sanguíneo. En primer lugar, la isquemia puede causar una disminución de la producción de energía celular, lo que puede llevar a la muerte celular. Además, la isquemia puede causar una acumulación de productos de desecho en el tejido, lo que puede provocar inflamación y daño tisular. En algunos casos, la isquemia puede causar una reorganización del tejido, como en el caso de la cicatrización de una herida.

FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA MIOCARDICA

FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA MIOCARDICA

La mayoría de nuestros conocimientos en la evolución de la lesión miocárdica que se producen durante la isquemia, proceden mucho más de los estudios del infarto de miocardio que de la isquemia quirúrgica inducida durante la circulación extracorpórea para el tratamiento de las cardiopatías. Sin embargo, aunque ciertos aspectos son superponibles, existen claras diferencias respecto a la etiología y sobre todo a la evolución de los dos procesos.

NATURALEZA DE LA ISQUEMIA

Convencionalmente, la isquemia se ha definido como un déficit de sangre en los tejidos. Una definición más amplia debe de llevar consigo la naturaleza dinámica causal de la isquemia, y la posibilidad de obtener energía durante la isquemia. Esencialmente la isquemia representa un desbalance entre la demanda miocárdica y la suplencia vascular de flujo sanguíneo coronario. La isquemia no solo crea un déficit en el aporte de oxígeno, substratos, y energía tisular, sino que además se produce una insuficiente capacidad para la eliminación de metabolitos tóxicos tales como el lactato, dióxido de carbono y protones. El cese total de flujo coronario no es un requisito imprescindible para

que se produzca la isquemia miocárdica, así ocurre en raras ocasiones clínicas cuando se produce el infarto de miocardio con un flujo colateral capaz de suplir las necesidades de la zona infartada.

Una característica importante de la isquemia miocárdica es su heterogeneidad morfológica, tanto macro como microscópica (36,37). Es particularmente frecuente en la isquemia regional encontrar islotes celulares con signos de isquemia severa acompañando a otras áreas de tejido normal. Esta heterogeneidad también surge durante la isquemia global inducida con la circulación extracorpórea, sin embargo existen otros factores que influyen en esta situación como son: el grado de flujo sanguíneo coronario colateral previo, la especial susceptibilidad del endocardio isquémico, la existencia de lesiones miocárdicas previas a la cirugía, y los gradientes térmicos miocárdicos que contribuyen a la existencia de diferentes modelos de lesión tisular.(38).

EL PROCESO ISQUEMICO

Un aspecto importante de las lesiones miocárdicas inducidas por la isquemia son su heterogeneidad, pudiendo coexistir en áreas próximas, diferentes grados de lesiones evolutivas. En la Figura n.1 se muestra la secuencia de eventos que se producen durante la isquemia, tanto regional como global, y por consiguiente durante la hipoxia. La mayoría de estos cambios afectan

al metabolismo, actividad eléctrica de la fibra miocárdica, función contráctil, respuesta vascular y a la estructura tisular, estas alteraciones se inician cuando el proceso isquémico es severo (39), (40). Aunque este esquema es altamente especulativo en el sentido de que la secuencia y el orden de los acontecimientos no ocurren en el estricto orden, puede sin embargo ser orientativo en la práctica, por otra parte los cambios son dinámicos y solo indican el inicio de los mismos. En general los cambios precoces son reversibles, pero cuando se incrementa la duración de la isquemia, la transición entre la fase reversible y la irreversible aún es desconocido y pudiera estar en la zona señalada en el esquema.

ALTERACIONES INMEDIATAS

Con el inicio de la isquemia (después de unos segundos, o de unos latidos cardiacos en anoxia) se produce una disminución severa de la actividad contráctil aunque la excitabilidad permanece esencialmente normal. (36,41) Se ha pensado que esta respuesta conservadora rápida puede estar ligada a varios factores como son: la liberación de un pequeño componente de adenosin trifosfato (ATP), a que la propia isquemia induce interferencias con la homeostasis del calcio, al efecto acumulativo de los protones sobre el calcio combinado del aparato contráctil celular, o a un proceso no identificado en la actualidad; aunque la insuficiencia contráctil es esencialmente rápida, no es total

y suele persistir una actividad mecánica durante largo tiempo. (42), (43) La supresión de esta actividad por los agentes cardiopléjicos (ion potásico) juega un importante papel en la protección miocárdica inducida durante la isquemia global quirúrgica.

Durante los primeros segundos de la isquemia, el oxígeno disuelto en el citoplasma celular es gastado en condiciones anaeróbicas; asociado a esto, existe una reducción o abolición completa en la producción oxidativa del ATP siendo derivado en estas condiciones de la vía aeróbica a la anaeróbica, sin embargo la producción de ATP puede estar mantenida durante cierto tiempo debido a dos factores como son: la posibilidad de generar ATP por dos vías diferentes, (aunque con eficacia distinta), y por la posibilidad de que exista flujo sanguíneo colateral no coronario. (44).

ALTERACIONES PRECOCES

Se produce una reducción del metabolismo mitocondrial, resultando una rápida reducción de la vía B-oxidativa de los ácidos grasos, a pesar de esta reducción en la utilización de los ácidos grasos su eliminación está dificultada, resultando una acumulación de los derivados grasos del ácido acetil-CoA durante la isquemia. (44) Esta acumulación puede ser exacerbada por el AMP-cíclico mediante la lipólisis endógena de los triglicéridos, la cual puede desencadenar la liberación de

catecolaminas. (45)

Durante los primeros minutos de la isquemia, la utilización de los ácidos grasos está deprimida, y la utilización de los carbohidratos está limitada. En la isquemia, en contraste con la hipoxia, la producción de glucosa no resulta de un incremento de la glucosa disponible sino de un aumento de la glicogenolisis y de la glicolisis (46). El control de la glicolisis y el mecanismo de estimulación de la glicogenolisis sirven para ilustrar las diferencias metabólicas que pueden ocurrir entre modelos diferentes de privación de oxígeno. Aun que la glicosis es controlada a nivel de la fosfofructoquinasa durante la anoxia, y posiblemente durante la isquemia regional, sin embargo puede estar controlada por el gliceraldehído-3-fosfato de hidrogenasa durante la isquemia global (39,46). El control puede variar entre estos y otros enzimas dependiendo de los diferentes tiempos evolutivos de la isquemia. (7), (40) También se ha sugerido que mientras las catecolaminas juegan un papel importante en la activación de la glicogenolisis durante la isquemia, su papel es menor durante la hipoxia.

La estimulación de la glicolisis anaeróbica (Efecto Pasteur) representa un intento de mantener los niveles de ATP miocárdico que tienden a disminuir a través de los mecanismos no oxidativos. La estimulación de la glicolisis en presencia de una actividad mitocondrial reducida produce una acumulación de los productos

intermediarios glicolíticos, que reducen la nicotinamida adenina dinucleotido-fosfato (NADH) en un intento de regenerar las reservas de NAD⁺. Debido a la actividad continua de la glicolisis el piruvato es reducido a lactato, el cual se acumula dentro del citoplasma y posteriormente es el responsable de las pérdidas celulares. En suma la regeneración de NAD⁺ puede ser activado por la estimulación de la actividad de la x-glicerofosfato deshidrogenasa y también por la conversión del fosfatodehidroxiacetona en x-flicerofosfato. (39), (47), (48)

El hallazgo precoz más importante durante la isquemia miocárdica es la acumulación de protones en el citoplasma celular y el progresivo desarrollo de la acidosis intracelular. Los protones provienen de varias fuentes, incluida la degradación de los nucleótidos de adenina, y la acumulación del dióxido de carbono (del metabolismo oxidativo, y de varias reacciones de decarboxilación). Los protones se generan fundamentalmente durante la anoxia, sin embargo en presencia de un flujo coronario normal se produce un cierto grado de protones y de dióxido de carbono que aunque son lavados continuamente proporcionan un cierto grado de tendencia hacia la acidosis celular. La acumulación de protones, lactato, y NADH dentro de la célula miocárdica pueden hacer disminuir la activación precoz del gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa y de la fosfofructoquinasa. El resultado es la inhibición de estos enzimas que conducen a la vía glucolítica, y en definitiva el efecto inhibitorio en la

actividad glicolítica y su posterior papel en la insuficiencia contractil precoz.

Por otra parte el acúmulo de protrones pueden contribuir en el desarrollo posterior del daño celular isquémico. (49,50). La activación de las hidrolasas lisosomales y las lipoprotein-lipasas, junto con los protrones acumulados producen cambios en la conformación de las membranas que contribuyen a la existencia de pérdidas celulares. En esta situación se produce una disminución en el gradiente iónico transmembrana, con pequeñas pérdidas de potasio celular y acumulación de sodio y cloro, con el consiguiente cambio osmótico celular, de atrapamiento de agua y consiguiente edema. Este edema contribuye a lesionar el citoplasma y la membrana con el desarrollo de escape citoplásmico a través de la membrana celular. (51,52)

Es bien conocido que ocurren cambios en el segmento ST (relacionados al segmento QT), como resultado en la oclusión del flujo coronario. Estos cambios pueden ser detectados 30 segundos después del inicio de la isquemia y son máximos entre 5 y 10 minutos más tarde. Las bases electrofisiológicas en los cambios del segmento ST son complejas y controvertidas, siendo posiblemente las alteraciones en el transporte iónico a través de la membrana las responsables de los cambios electrocardiográficos precoces. La pérdida de control en los depósitos energéticos, la acumulación intracelular de sodio, cloro y agua (pérdida del

control del volumen celular) y la pérdida celular del ión potásico son los factores que juegan un papel importante en los cambios electrocardiográficos del segmento ST. (43,53)

Durante esta fase también se produce una reducción en la amplitud y duración del potencial de acción, estos cambios estarían producidos por la pérdida de potasio intracelular, por la reducida producción glicolítica del ATP, el cual reduce el calcio del sarcolema con incremento local del calcio libre y reducción en la movilidad del calcio intracelular. Contrariamente a lo que pudiera pensarse, existe poca disponibilidad precoz en la utilización del calcio en las células isquémicas. (54)

Los cambios vasculares ocurren durante los primeros momentos de la isquemia. Se produce una marcada vasodilatación coronaria que trata de incrementar la eficacia en la extracción máxima del oxígeno disponible. La vasodilatación se produce por un número complejo de factores interaccionados de los cuales los más importantes son: la liberación de prostaciclina, y de adenosina intracelular. (55)

Los efectos conservativos que tratan de contener el fallo contractil son: la glicolisis y la estimulación energética de la vía anaeróbica, la marcada vasodilatación y la apertura de vasos colaterales, siendo capaces de mantener el metabolismo basal y la integridad celular por los menos durante varios minutos.

Los cambios ultraestructurales no son evidentes aparentemente durante los primeros minutos de isquemia y están limitados a pérdidas ligeras en los gránulos de glucogeno, también se desarrolla un discreto edema intracelular y una posible hinchazón de la mitocondria y de los túbulos. Durante los 15 siguientes minutos al inicio de la isquemia, se produce un subsecuente enlentecimiento de la actividad glicolitica y mas tarde un incremento en la concentración citoplasmica de protones, NADH y lactato. Posteriormente la actividad glicolitica continua disminuyendo bajo las condiciones de isquemia severa, incluso esta inhibición puede ser total, y está condicionada fundamentalmente por una deplección severa del glucógeno disponible. (50).

SECUENCIA FISIOPATOLOGICA DE LA ISQUEMIA MIOCARDICA.

Reducción del oxigeno disponible.

Alteraciones en el equilibrio iónico transmembrana.

Utilización del oxigeno disuelto.

Cianosis.

Reducción de la actividad mitocondrial y del metabolismo oxidativo.

Reducción en la producción de ATP.

Reducción en los depósitos de fosfato de creatina.

Reducción en la amplitud y duración de los potenciales de acción.

Pérdidas de ión potasio.

Alteraciones en el segmento ST.

Acumulación de iones, cloro y sodio.

Liberación de catecolaminas.

Estimulación de la adenil-ciclasa.

Activación de las fosforilasas del AMP-cíclico.

Estimulación de la glicogenosis.

Utilización de los fosfatos de alta energia.

Acumulación de protones, dióxido de carbono y fosfatos inorgánicos.

Estimulación de la actividad de la fosfofructoquinasa.

Aumento del flujo glicolítico.

Desarrollo de la acidosis intracelular.

Reducción o bloqueo del transporte electrónico a nivel mitocondrial.

Represión en la oxidación de los ácidos grasos.

Utilización del glucógeno.

Pérdida de los fosfatos inorgánicos.

Acumulación de Difosfato de Nicotinamida.

Aumento de la actividad de la x-glicerofosfato, dehidrogenasa y lacto-dehidrogenasa.

Acumulación de lactato y x-glicerofosfato.

Pérdida de lactato.

Acumulación de derivados grasos del Acetil-CoA.

Deplección de fosfatos de creatinina.

Pérdidas de adenosin y otros metabolitos.

Vasodilatacion.

Inhibición en la actividad de la adenina transferasa.

Posible estimulación de la síntesis de triglicéridos.

Aumento de la acidosis celular.

Represión de la actividad de la fosfofructoquinasa y del gliceraldehído-3-fosfato dehidrogenasa.

Enlentecimiento del flujo glicolítico.

Aumento de la deplección de los depósitos energéticos.

Edema celular.

Aumento del contenido del calcio ionizado intracitoplasmático.

Pérdida de ion magnesio.

Posible desaparición de las reservas de glucógeno.

Desarrollo del daño mitocondrial.

Inhibición de la glucólisis.

Severa reducción del ATP.

Cambios estructurales mínimos a nivel mitocondrial (Edema en las paredes de las mitocondrias).

Posible inicio de contractura muscular.

¿INICIO DEL DAÑO IRREVERSIBLE?

Activación de las hidrolasas lisomales.

Activación de las proteinlipasas.

Aumento del edema celular.

Disminución en el control respiratorio mitocondrial.

Cambios inespecíficos electrocardiográficos.

Cambios ultraestructurales en mitocondrias y miofibrillas.

Completa deplección de las reservas energeticas.

Disrrupción metabólica.

Pérdidas en los componentes mitocondriales.

Perdida de macromoléculas en el espacio intesticial y linfático.

Daño estructural severo y de las membranas.

Disrrupción celular.

Pérdidas enzimáticas.

Disrrupción en la mitocondria.

Desintegración en las miofibrillas.

Interrupción en las membranas celulares.

Antolisis celular.

Figura n.1

ALTERACIONES TARDIAS.

Cuando la duración de la isquemia progresa, se detectan cambios severos en la célula a la vez que se intensifican las lesiones pre-existentes.

Estudios con mitocondrias aisladas procedentes de tejidos isquémicos demuestran que en los estadios iniciales la proporción de los valores $ADP : O_2$ son normales aunque existe una disminución del consumo de oxígeno, lo cual sugiere una inhibición en el proceso de la fosforilación mas que un desacople. Sin embargo cuando el daño isquemico progresa decrece la proporción de $ADP : O_2$ (27, (56) siendo el resultado final la pérdida del control respiratorio de la mitrocondria.

Las pérdidas del calcio mitocondrial ocurren probablemente durante los estadios precoces del proceso isquémico. Este calcio mitocondrial contribuye al incremento de los niveles de calcio ionizado citoplásmico, que posteriormente aumenta como resultado del calcio procedente del ATP, y de la reducción de calcio secuestrado en varios lugares de la célula (42).

Durante la primera hora y media de la isquemia se producen disrrupciones en las cadenas largas de los ácidos grasos que

contiene el acetil-CoA como componente, produciéndose su acumulación en el citoplasma, siendo responsables de los efectos tóxicos que inhiben la actividad del adenin-nucleótido-transferasa (57). Este acúmulo de ácidos grasos disrrupcionados son la génesis de arritmias cardíacas durante este periodo.(58),(59). Cuando aumenta la duración de la isquemia se produce una contractura miocárdica(una forma de parada cardíaca en sístole, que recuerda la rigidez cadavérica de los músculos esqueléticos). Esta situación es debida a la acumulación de complejos "rígidos" secundarios al deficit de ATP. Este estado de contractura, ultraestructuralmente se caracteriza por la aparición de bandas de contracción, desorganización de las bandas Z y disrrupción miofibrilar. En este estadio la mitocondria está distorsionada y puede aparecer vesiculada, los granulos de glucógeno se han perdido y el retículo sarcoplasmico puede estar vacuolado. Existe distorsión y daño a nivel de la membrana celular apareciendo discontinuidad en la membrana despues de una hora de isquemia. (37),(60),(61).

Durante este periodo se produce un deterioro no específico y progresivo en el control de la permeabilidad celular, con pérdida de los iones intracitolásmicos, pérdidas de lactato y de macromoléculas, como ocurre con las proteínas citoplásmicas y los enzimas. La aparición de estas macromoléculas en el espacio intersticial y en los linfaticos cardíacos se ha observado en la hora siguiente al inicio de la isquemia.(37),(62).

En las horas siguientes se produce una estimulación en la actividad de los enzimas lisosomales, los cuales juegan un papel importante en las alteraciones ultraestructurales que ocurren a nivel de la membrana celular. El desarrollo de estas lesiones vienen condicionadas a través de la activación de las lipoproteín-lipasas y de otros enzimas hidrolíticos lisosomales. En este estadio existe una pérdida de respuesta vascular a la isquemia y una disminución del flujo sanguíneo, secundario al edema del endotelio capilar, que reduce su diametro, produciéndose un atrapamiento de células sanguíneas en su interior. Por otra parte el desarrollo de la contractura isquémica hace que se estrangulen los vasos sanguíneos, produciéndose el fenómeno de "no flujo sanguíneo" que es característico de los estadios avanzados de la isquemia. (51), (63), (64).

En estos estadios finales de la isquemia las posibilidades de aporte de oxígeno son escasas, el metabolismo celular y la producción de ATP cesan virtualmente, los depósitos de glucógeno se han vaciado, y la glicolisis junto con la función mitocondrial se han inhibido prácticamente en su totalidad. Las vías metabólicas para el anabolismo y catabolismo de las proteínas, ácidos grasos, lípidos y ácidos nucleicos cesan, posteriormente se produce la autólisis con procesos de infiltración, fibrosis y finalmente la muerte celular.

LA MANIPULACION DEL PROCESO ISQUEMICO

El concepto de protección durante la isquemia miocárdica tiene su origen en dos hechos. De una parte existe el concepto de la reversibilidad del tejido lesionado en relación con la reperusión y de otra la suposición de que el metabolismo celular puede ser manipulado en el sentido de reducir o retrasar el inicio de la lesión tisular, y por tanto proteger a las células que de otro modo habrían muerto.

REVERSIBILIDAD E IRREVERSIBILIDAD DE LA LESION TISULAR

El examen continuo de la lesión celular producida por la isquemia, revela que el daño es progresivo y que puede ser dividido en una serie de fases (Jennings y Ganote). (65). Sin embargo las alteraciones celulares producidas por la isquemia durante los primeros minutos son completamente reversibles; así después de reestablecido el flujo coronario se produce una rápida y completa normalización de la actividad funcional aunque pueden producirse arritmias cardiacas relacionadas con la reperusión. Posteriormente si examinamos el tejido isquémico al cabo de varios días, después de la reperusión vemos que no existen lesiones isquémicas (66). Si la duración y/o la severidad de la isquemia aumentan, el retorno hacia la función contractil normal no es inmediata (quizá se necesita una semana o más tiempo para

recuperar los precursores del nucleótido de adenina que se perdieron durante el periodo de la isquemia), sin embargo en este estadio la lesión celular puede ser considerada como reversible. No obstante sobrepasado un punto aun no identificado, la lesión tisular llega a ser tan severa que la reperfusión puede causar una mayor aceleración del daño celular. (67), (68), (69).

El objetivo primordial de la protección miocárdica eficaz es prevenir o retrasar la crítica transición de la lesión isquémica reversible a la irreversible. Considerando el concepto de lesión isquémica en el contexto de la cirugía cardiaca abierta es necesario valorar no sólo los eventos ocurridos durante la isquemia sino también las consecuencias de la reperfusión que en ocasiones pueden ser determinantes.

LA NATURALEZA DE LA REPERFUSION

El interés clínico de la isquemia miocárdica y de la reperfusión vienen condicionados por dos hechos, la parada cardiaca isquémica electiva durante la circulación extracorpórea, y el uso clínico de la angioplastia y la fibrinólisis. (6), (69).

Al comienzo de los años 1960. Danforth y colaboradores (70) aportan estudios del metabolismo glicolítico durante la isquemia y la reperfusión. Posteriormente se observó que la reperfusión no necesariamente siempre beneficiaba al miocardio isquémico y

que en determinadas ocasiones la restitución del flujo coronario adecuado, paradójicamente aumentaba la extensión del daño isquémico.

Las alteraciones estructurales, funcionales y cambios metabólicos que ocurren durante la reperfusión seguida de varios periodos de isquemia intermitente pueden ser semejantes a las lesiones que se producen durante la reperfusión.

CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES

Los estudios ultraestructurales han demostrado que en la fase de lesión isquémica reversible precoz se produce una rápida normalización de los mínimos cambios morfológicos que habían ocurrido. Cuando la lesión isquémica es más severa y cursa con edema, disrupción de las miofibrillas y lesión severa de la mitocondria se ha sugerido que las lesiones son irreversibles y que la reperfusión puede inducir una extensión masiva de la lesión. Esta reperfusión o reoxigenación induce una exacerbación de la lesión isquémica a nivel subcelular pudiendo producirse una intensa contractura, disrupción de las miofibrillas y del sarcolema, edema celular, ruptura y pérdidas de algunos componentes intramitocondriales y la aparición de partículas de fosfato-cálcico intramitocondrial. La ruptura de la mitocondria y del sarcolema junto a las alteraciones en la homeostasis del calcio son un intento de limitar las lesiones secundarias a la isquemia

y la reperfusión. Las siguientes manifestaciones en cuanto a severidad se refiere, son la aparición de lesiones hemorrágicas. (42), (54), (71), (72).

CARACTERISTICAS FUNCIONALES

La reperfusión también puede afectar a la contracción. La reducción precoz e intensa de la actividad mecánica producida por la hiposia o isquemia se mide por índices de la función contráctil. En estudios isométricos se ha demostrado que se reduce la tensión desarrollada por la fibra muscular. También se produce una disminución en el índice de tensión máxima, disminución en el tiempo en que la tensión alcanza su máximo, y de la duración de la contracción. Durante la fase inicial de la reperfusión-reoxigenación, existe una respuesta contráctil en la que aunque la recuperación de la función puede llegar a ser completa, esta no siempre es simétrica. Por otra parte existe una prolongación de la contracción antes de que se alcance una recuperación significativa de la tensión desarrollada. Esta prolongación se caracteriza por un intenso aumento del tiempo de relajación medio y del tiempo en alcanzar la máxima tensión. (60), (66), (73), (74).

El proceso de relajación progresivamente retorna a valores normales hasta coincidir en una recuperación total de la tensión desarrollada.

Se piensa que la duración de la tensión en la reperfusión-reoxigenación puede estar relacionada con el tiempo de desporalización de membrana y por lo tanto con el tiempo de entrada de calcio. Trautwein y Dule (75) han demostrado que la hipoxia se asocia con una disminución de la meseta del potencial de acción y de la duración de la tensión, y demuestran que la reoxigenación produce una recuperación de ambos parámetros. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado que es posible disociar la prolongación de la actividad mecánica, de la duración del potencial de acción. En estudios recientes de prolongación de la tensión con reoxigenación Bing (73) ha demostrado que este fenómeno persistía a pesar de la administración de fármacos que alteraban intensamente la actividad contráctil, mientras pequeñas cantidades de oxígeno producían pequeños cambios en la tensión isométrica grandes cantidades producían un alargamiento de la tensión. Esta respuesta se inhibía con pequeñas concentraciones de los inhibidores respiratorios pero grandes concentraciones de desacopladores de la fosforilación oxidativa no impedían su aparición. (73) Estos autores concluyen que la actividad respiratoria mitocondrial, independientemente de la producción de ATP, estaba directamente implicada en este aspecto de la regulación de la contracción miocárdica.

CARACTERISTICAS METABOLICAS

La función mitocondrial y la homeostosis del calcio pueden jugar un papel fundamental en los patrones de lesión durante la reperfusión del miocardio isquémico. La progresión de los cambios mitocondriales que se producen durante la isquemia se han descrito anteriormente . La reperfusión durante las fases iniciales de la lesión isquémica, cuando la lesión mitocondrial es mínima (relación ADP/O₂ prácticamente normal, pero disminución del transporte electrónico), resulta una rápida recuperación mitocondrial. (54) Sin embargo con tiempo mayores de isquemia, cuando las mitocondrias no responden al ADP la recuperación puede ser parcial o estar retrasada. Estudios posteriores Ganote (67) han corroborado que una alteración en el transporte electrónico y no una lesión de la fosforilización oxidativa o de la producción de ATP, es la responsable de iniciar este proceso. Estas consecuencia adversas de la reoxigenación y de la reperfusión son similares al fenómeno del calcio paradójico descrito por Zimmerman y colaboradores. (76), (77). La perfusión de corazones con medios libres de calcio por períodos cortos de tiempo (como ocurre con las soluciones cardiopléjicas) pueden crear una situación en la que la readmisión de calcio produce un edema celular, con liberación de enzimas por rotura tisular y posterior desarrollo de la contractura. Estudios comparativos han sugerido

que en ambos casos los factores básicos responsables de la producción de la lesión son las alteraciones en la homeostasis del calcio y en el metabolismo energético. Lo que supone un flujo masivo de calcio a través de la membrana produciendo edema y contractura. El desbalance del calcio se ha implicado como un factor de daño celular miocárdico. Flakenstein (78), (79) ha demostrado que la sobrecarga de calcio contribuye a la patogénesis de la necrosis no isquémica. Por otro lado Dhalla. (80) Ha revisado el papel de los sistemas de membranas y de la sobrecarga del calcio en el papel de la insuficiencia cardíaca. Parece razonable el pensar que ciertos aspectos del daño isquémico de la reperfusión-reoxigenación pueden estar explicados en términos de capacidad celular en el mantenimiento de una homeostasis adecuada de calcio.

Son interesantes las observaciones hechas por Kane (81) y colaboradores en las que tras períodos leve de isquemia, la reperfusión-reoxigenación puede producir un aumento de la lesión mitocondrial. La reperfusión produce un cambio súbito en la presión, flujo, substratos, oxígeno y características osmóticas del tejido, pudiendo contribuir a aumentar la lesión isquémica por inhibición de la fosforilación oxidativa y la función mitocondrial. El aumento rápido del daño ocurre en los minutos iniciales de la reperfusión y puede ser atribuido a alguno de los factores anteriormente descritos. La disponibilidad de oxígeno en el proceso de reperfusión sería responsable de un flujo alto de calcio

a través de la membrana (Shen, Jeennings, Ganote) (55), (65), (67) que produciría un exceso intracelular conllevando esto a un edema mitocondrial y daño miofibrilar, así como la aparición de bandas de contracción y depósitos de fosfato y calcio intramitocondriales. Parr y colaboradores (82) concluyen que el daño producido por la reoxigenación resultaba de los efectos físicos de una captación masiva de calcio así como de su capacidad de unión a los lugares específicos. Considerando posibles mecanismos, es probable que durante la isquemia exista un incremento inicial del contenido de calcio iónico intracitoplasmático. Esto puede ser debido a varios mecanismos: disminución en el secuestro del calcio por el retículo endoplásmico, pérdida del calcio intramitocondrial y disminución de los agentes quelantes del calcio como el citrato y el ATP, como resultado directo del fallo mitocondrial producido por la isquemia. (83) La readministración de oxígeno en un estadio inicial de la lesión (cuando las membranas celulares están intactas, cuando existe ATP disponible y cuando la cadena de transporte electrónico y la fosforilación oxidativa están bloqueadas pero no lesionadas) se produce una recuperación de las vías del transporte electrónico, una restauración de la fosforilización oxidativa y de la producción de ATP, y una recuperación de la actividad contractil. Durante la fase de recuperación inicial es probable que exista una captación reversible de calcio, fosfatos inorgánicos y de ADP por las mitocondrias, esta captación de calcio junto a la liberación de protones y posterior salida de calcio puede influir de alguna forma en el fenómeno de

prolongación de la tensión que se observa durante las primeras fases de la reperfusión. El efecto nocivo de la reperfusión-reoxigenación y del flujo del calcio, se han relacionado con la producción de radicales superóxido e hidróxilos, estos agentes pueden causar daño a los sistemas de membranas donde se produce la peroxidación lipídica. Al menos cuatro fuentes de radicales libres se han identificado en el corazón isquémico y reperfundido, estos son: la degradación de las catecolaminas por las monoaminoxidasas, las mitocondrias, los leucocitos, y las xantinoxidasas. (84), (85).

En el caso de las catecolaminas, la isquemia se caracteriza por la liberación local de norepinefrina de las terminaciones nerviosas simpáticas en la zona isquémica. Estas catecolaminas son degradadas por las enzimas monoaminoxidasas que afectan a la cadena oxidativa con una producción subsecuente de un exceso de electrones. El oxígeno molecular actúa como un captador de electrones y se producen radicales hidróxilo y peróxido.

Las mitocondrias son el sitio donde ocurre la oxidación celular y el lugar donde se reduce el oxígeno molecular a agua. Sin embargo en la respiración mitocondrial, el 1% del flujo eléctrico se traduce en producción de superóxido, este exceso de superóxido es contrarrestado por el glutatión y la desmitasa por lo que no se produce lesión. La producción de superóxido por las mitocondrias se cree que ocurre en el paso de la NADH dehidroge-

nasa cerca de la ubiquinona. La isquemia podría alterar la función mitocondrial y aumentar la producción de superóxido, especialmente durante la reperfusión.

Los leucocitos presentan la tercera fuente de radicales libres de oxígeno. En un estudio del proceso, el miocardio infartado es infiltrado por leucocitos, que producen grandes cantidades de superóxido como consecuencia de su actividad NADPH-oxidasa, y el 70% del oxígeno consumido por los leucocitos activados es convertido en superóxido, en esto consiste su principal mecanismo bactericida de los leucocitos. El que los leucocitos representen una fuente importante de radicales libres durante el infarto depende del momento en que lleguen al tejido.

La cuarta fuente de superóxido es la xantinaoxidasa. Esta enzima cataliza la reacción en que la hipoxantina es convertida en xantina y posteriormente en ácido úrico. El oxígeno puede actuar como aceptor de electrones, y al hacerlo se producen radicales peróxido libres.

Un importante número de acontecimientos ocurren en el comienzo de la isquemia miocárdica, que, en el corazón hacen que la xantina-oxidasa sea una fuente importante de producción de radicales libres, y que pueden contribuir a la lesión de la isquemia y de la reperfusión. En primer lugar, está la producción de hipoxantina como consecuencia de la degradación de fosfatos

de alta energía durante la isquemia y el acúmulo de hipoxantina en grandes concentraciones dentro de la célula. En segundo lugar la conversión producida por la isquemia de la xantina-deshidrogenasa hacia la xantina-oxidasa que produce radicales superóxidos, este cambio crítico enzimático, ocurre en el endotelio capilar, lugar donde se localiza la xantina-oxidasa. La reintroducción de oxígeno durante la reperfusión crea las condiciones ideales para la formación de grandes cantidades de superóxido que pueden producir lesiones importantes.

Un aumento aparente de la lesión tisular ocurre con la reperfusión tras isquemia prolongada (cuando existe lesión de membrana, disminución de las reservas energéticas, y la lesión mitocondrial se limita a la fosforilación oxidativa por lo que la cadena de transporte electrónico permanece intacta pero bloqueada) y puede resultar una captación masiva del calcio y un depósito irreversible de fosfato alternativo a la fosforilación oxidativa, posiblemente como resultado de la incapacidad mitocondrial de fosforilar el ADP y que pase a ATP.

El aumento intramitocondrial de calcio puede ser favorecido por los altos niveles de fosfato ionorgánico extra e intramitocondrial y las altas concentraciones de calcio, esto último debido posiblemente a la entrada de calcio extracelular como resultado del daño progresivo de la membrana que se produce en

el periodo de isquemia anterior.(86). Junto a la entrada rápida de grandes cantidades de calcio, existe una salida mayor de protones de la mitocondria al citoplasma. Esto produce una acidificación citoplásmica que junto a la salida de calcio mitocondrial y de la membrana celular puede ser responsable de la extensión del daño ultraestructural que conduce a una mayor liberación de elementos citoplásmicos al espacio extracelular.

(87) El comienzo de la contractura severa que resulta de (la deplección de ATP, del aumento del calcio citoplásmico y del edema celular que sigue a la entrada del sodio y agua) es secundaria a la redistribución rápida del calcio.

Los métodos de protección deben ser dirigidos no sólo hacia la prevención de la lesión inducida por la isquemia, sino también hacia la lesión producida por la reperfusión .Esto puede requerir diferentes estrategias en diferentes momentos. Durante la isquemia las necesidades prioritarias son la conservación de la energía y la privación de la transformación de una lesión reversible en irreversible, así como limitar el número de células que experimentan esa transformación. Durante la reperfusión las prioridades se dirigen hacia un control adecuado de la distribución del patron normal iónico, particularmente del calcio y evitar el edema celular y sus consecuencias.

CONTRACTURA ISQUEMICA DEL CORAZON "STONE HEART"

en el momento de la intervencion quirúrgica como : grado funcional III-IV de la New York Heart Association (N.Y.H.A.), avanzado estado de insuficiencia cardiaca izquierda hipertrofica de ventriculo izquierdo con aumento de la presión telediastólica, transtornos de la conducción intraventricular, y la gran mayoría de los pacientes padecían patologia de la valvula aórtica.

HALLAZGOS PATOLOGICOS.

Los estudios histológicos de estos pacientes demostraban como hallazgos comunes que se caracterizaban por una hipertrofia miocárdica concéntrica ,tanto macro como microscópica,(Fig.2. A.B.) que producían una severa disminución de la cavidad ventricular izquierda.El sobrepeso del corazon en todos los casos era superior al 50%. Los estudios histologicos mostraban una fibrosis intersticial severa con signos focales de isquemia y de necrosis miocárdica.(Fig.2 C.D.) Aunque en algunos enfermos existían lesiones a nivel coronario estas parecía que no jugaban un papel significativo en la génesis del "stone heart".La severa hipertrofia muscular es responsable de la insuficiencia cardiaca izquierda y de la posterior evolución hacia la fibrosis miocárdica (17),(22),(89).

La contractura miocárdica aparece al principio en la zona subendocárdica y posteriormente progresa hacia la perifería a traves del epicardio; cuando la contractura es completa el

proceso estrangula vasos coronarios agravando aún más el proceso isquémico. (17,22).

TRATAMIENTO

Todos los intentos terapéuticos para recuperar estos corazones han fracasado. Se han utilizado sin éxito la infusión intracoronaria de múltiples sustancias, para intentar romper la contractura miocárdica, como el cloruro potásico multidosis, sulfato de magnesio, propanolol, glocagon, regitina^(R), corticoides, isoproterenol, dantrolene sódico. Ciertas medidas de soporte circulatorio como el masaje cardiaco, el soporte con circulación extracorpórea, la asistencia ventricular y las miotomías de ventriculo izquierdo no han conseguido romper la contractura muscular.

ETIOPATOGENIA

Debido a la severa hipertrofia miocárdica y a la fibrosis intersticial puede hacernos pensar que hubiera un cierto grado de insuficiencia coronaria, sin embargo las lesiones coronarias groseras no fueron significativamente evidentes. Lundsgaard-Hansen (90) han sugerido que el sobrecrecimiento cardiaco produce un deficit en el aporte sanguíneo por estrangulación de las arterias coronarias, produciendo isquemia miocárdica y secundariamente lesión en los miocitos.

Morales y Henson (17), (89) sugieren que uno de los primeros signos de la isquemia miocárdica, seguida de circulación extra corporea es la presencia de bandas de contracción en las fibras del miocardio al microscopio. Este estado patológico precede a la necrosis isquémica. La aparición de las bandas guarda relación con el estado contráctil del miocardio, dado que la mayoría de las miofibrillas aparecen contracturadas en el estudio al microscopio. Por otra parte, el proceso isquémico produce un exceso de catecolaminas que favorecen el estado de contractura. En este estadio la perfusión coronaria a nivel celular puede estar reducida irreversiblemente por cierre de los sinusoides miocárdicos. (91), (92).

Las bandas de contracción se forman cuando los filamentos delgados (actina) y los gruesos (miosina) pierden su habitual separación espacial, presentando un entrecruzamiento de los mismos con acortamiento de la longitud de la sarcomera, cuando este acortamiento supera el 80% el estado es de supercontracción similar al observado durante la tetania muscular o la rigidez cadavérica. (88), (93).

Cuando la isquemia miocárdica se debe a una oclusión coronaria, la respuesta del corazón es bastante diferente a la descrita por Cooley. La fuerza de contracción miocárdica disminuye en unos segundos tras el cese de flujo coronario, por lo que después de un minuto, el miocardio isquémico debilitado, protuye

hacia el exterior durante la sistóle, este fenómeno comunmente observado por los cardiólogos resulta de la excitación-contracción, proceso en el que el potencial de acción propagado inicia la actividad de las proteínas contráctiles del corazón. Por el contrario el "stone-heart" representa un mecanismo diferente al fallo isquémico, esta situación de rigidez puede atribuirse a una disminución de los depósitos de energía que conducen a una depleción de ATP en la zona de la célula cardíaca donde se encuentran los filamentos. El ATP posee una doble acción sobre las proteínas contráctiles, de un lado el ATP promueve la contracción al hacer interactuar los filamentos de actina y de miosina, mientras bajo condiciones experimentales diferentes (incremento de concentraciones iónicas, y de magnesio,) el ATP puede ejercer un efecto relajante al disociar las proteínas contráctiles. Si la concentración de ATP varía este doble efecto se manifiesta como relajación a altas concentraciones de ATP y contracción cuando las concentraciones de ATP disminuyen. Durante la diástole ventricular, las proteínas contráctiles se mantienen en un estado relajado debido a las altas concentraciones de ATP por lo que una disminución en la concentración de ATP miocárdico, causará uniones fuertes entre los filamentos finos y gruesos, produciendo rigidez. Así al disminuir el contenido de ATP la rigidez aumenta. Esto explica el hecho de que la rigidez cadavérica sea más precoz o intensa en soldados exhaustos muertos en el campo de combate si se les compara con personas muertas en la cama. (70), (88), (93), (94).

Otros de los factores que juega un papel importante en la contractura isquémica es el del calcio. Si el intercambio del ión-calcio está alterado, éste puede acumularse en el citoplasma, produciendo un estado contráctil mantenido.

Cuando el pH está elevado, el estado de rigidez se alcanza de un modo más rápido. La acidosis al inhibir las reacciones que consumen energía durante la contracción cardíaca, podría prevenir o retrasar el estado de contractura isquémica.

Si éste análisis es correcto y el "Stone-Heart" representa un estado de rigidez en el miocardio depleccionado de ATP, tanto la prevención como la terapia debe dirigirse hacia la corrección del desbalance entre el aporte de energía y su utilización.

**PRINCIPIOS DE LA CARDIOPLEJIA
EN LA PROTECCION MIOCARDICA**

PRINCIPIOS DE LA CARDIOPLEJIA EN LA PROTECCION MIOCARDICA

La cardioplejia no fué usada ampliamente en los Estados Unidos hasta mediados los años 1970, la razón de esto fueron las experiencias previas aportadas sobre el daño producido en los ventriculos por la infusión de sangre fria tratada con citrato potásico hipertónico por MELROSE (6) (95). Estudios posteriores aportados por BRETSCHNEIDER (31), KIRSCH (96), HEARSE (33) en Estados Unidos y por GAY y EBERT (97) en Europa fueron los que aportaron sólidos resultados para que volviera el interés en la aplicación de las soluciones cardioplégicas por la mayoría de los cirujanos cardiacos. TYERS (98) y colaboradores demostraron que el problema de la solución cardioplégica de MELROSE era una inapropiada concentración de sus constituyentes más que una inadecuada composición.

Los dos factores que afectan a la suplencia energética miocárdica durante la isquemia miocárdica quirúrgica inducida por el pinzamiento aórtico son: el flujo sanguíneo no coronario por una parte, y las reservas de substratos intracelulares (glucógeno, aminoácidos) por otra. Es frecuente la observación hecha durante la cirugía de la válvula aórtica de como existe discreto flujo sanguíneo a través de los orificios coronarios. Esta observación también se aprecia durante la cirugía de

revascularización miocárdica al observar flujo sanguíneo en la arteriotomía coronaria a pesar de encontrarse la aorta flácida y sin presión.

El corazón en condiciones de hipoxia o anoxia puede a través del metabolismo anaeróbico generar la suficiente energía para mantener funciones basales celulares lo menos durante algun tiempo. La glocolisis anaeróbica requiere la presencia de substratos (glucosa,glocógeno) y un ambiente metabólico (buffer adecuado)para permitir la producción de energia aneróbica.Bajo esta situación los aminoácidos pueden ser utilizados anaeróbicamente via ciclo Krebs para la obtención de ATP. La demandas de oxígenomiocardico vienen determinadas por la actividad electromecánica del corazón, y por la fibrilación ventricular o del corazón latiente durante la fase de isquemia quirúrgica, situaciones éstas de consumo energético mucho mayor que cuando el corazón está parado en diástole.(99). Otros determinantes de las demandas energéticas son la tensión de la pared del miocardio y la temperatura miocárdica que aumentan las necesidades metabólicas cuando están aumentadas.

REQUISITOS PARA EL USO CLINICO DE UNA SOLUCION DE CARDIOPLEJIA.

A) Para usar clínicamente una solución cardiopléjica ha de haber mostrado su efectividad y seguridad en modelos quirúrgicos experimentales que simulen las circunstancias clínicas.

B) Deben de mostrar una distribución homogénea y adecuada en todas las áreas cardiacas, independientemente del metodo elegido para su infusión.

C) Posibilidad de reinfusiones periódicas para tratar de anular el flujo coronario colateral que neutraliza los efectos de la cardioplejia.

D) Posibilidad de que la solución pueda disponerse y emplearse dependiendo de las diferentes situaciones clínicas que puedan presentarse.

COMPOSICION DE LAS SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS.

Los objetivos de la cardioplejia química son la parada cardiaca en diástole de una forma rápida y segura y además de crear un ambiente para que se produzca energía de una forma continua y de tratar de neutralizar el deterioro cardiaco producido por los efectos de la isquemia.

Existen una serie de principios básicos que deben de cumplir cualquier solucion cardiopléjica para que sea efectiva y segura.

PRINCIPIO

METODO

--Parada inmediata en diastole.

K⁺, Mg⁺⁺, Prucaina.

Hipotermia	10 ⁰ C -20 ⁰ C.
Substrato	Oxigeno,Glucosa Glutanato, Aspartato.
pH adecuado (buffer)	Tham,bicarbonato, fosfato, Imizadol.
Estabilizadores de membrana	Esteroides. Bloqueantes de los canales del calcio. Substratos de los radicales de O ₂ . ¿Ca ⁺⁺ ? ¿Procaina?.
Evitar el edema	Presión osmótica. Presión oncótica. Presión de perfusion.

La parada cardiaca inmediata y en diástole puede producirse para disminuir las demandas de oxígeno y evitar la deplección de los depósitos energéticos durante el trabajo electromecánico del corazón en isquemia, esta afirmación es especialmente cierta con las soluciones cardiopléjicas que no estan oxigenadas. A la inversa, los depósitos de alta energía pueden ser parcialmente controlados cuando la parada cardiaca es inducida con soluciones cardiopléjicas oxigenadas (100),(101). Estos estudios recientes muestran una disminución substancial de las pérdidas en los depósitos de ATP durante periodos cortos de actividad electrome-

canica inducidos por soluciones cardioplégicas no oxigenadas. La parada cardiaca en diástole puede ser inducida por el uso de diferentes elementos como son: potasio, magnesio, procaina o soluciones hipercalcémicas.

La temperatura miocárdica debe estar suficientemente disminuida como para reducir las necesidades metabólicas del corazón. Habitualmente esta disminución de la temperatura suele conseguirse con la infusión de la solución cardioplégica fría a 4°C . Temperaturas miocárdicas por debajo de 8°C - 10°C no reducen los requerimientos energéticos mucho más que las producidas por temperaturas 15°C - 20°C (0.015 contra 0.013 ml/100gr./min, respectivamente) (102), (103).

La existencia de substratos (glucosa, aminoácidos, oxígeno, etc) en la solución cardioplégica deberá proporcionar de una forma continua la producción de energía, tanto en la forma aeróbica como en la anaeróbica o en ambas durante la isquemia miocárdica. Esta situación es óptima cuando la solución cardioplégica está enriquecida con metabolitos (glutamato, aspartato) precursores de ciclo de Krebs (103).

Debe existir un pH adecuado que permita la continuidad de las reacciones enzimáticas durante la hipotermia miocárdica debido a las alteraciones que se producen en el equilibrio ácido-base. Consiguientemente la adición de soluciones buffer son

mecanismos en los diferentes tipos de cardioplejias (104).

Bicarbonato, fosfato, THAM, Imidazol, y otras soluciones buffer se han empleado y han confirmado los beneficios de optimizar la liberación de energía por la vía anaeróbica de la glucólisis durante la isquemia miocárdica.

Las soluciones cardioplégicas deben proporcionar un cierto grado de estabilidad en la membrana celular miocárdica para evitar los flujos de calcio durante la reperfusión. La existencia de calcio libre debe ser evitada para impedir la lesión de la membrana del sarcolema. Los antagonistas del calcio (verapamil, nifedipina, diltiazem, etc) que bloquean la entrada del calcio intracelular pueden tener una importancia en el futuro, como aditivos de las soluciones cardioplégicas (105), (106), (107). El papel de los esteroides y de la procainamida como estabilizadores de membrana permanecen inciertos en la actualidad. Los extractores de los radicales libres de oxígeno (peróxido-desmutasas, alupuridol, coenzima Q) pueden ser aditivos que contrarresten la citotoxicidad de los metabolitos oxigenados que pueden producir cambios en los fosfolípidos de la membrana durante la isquemia y durante la reperfusión (108), (109), (110).

El edema miocárdico es una constante en las lesiones producidas por la isquemia miocárdica. Por esta razón hay que prestar atención a la osmolaridad y a la presión oncótica de las soluciones, así como a la presión de perfusión de las soluciones para

evitar lesiones yatrogénicas durante su infusión (111).

CARDIOPLEJIAS OXIGENADAS

La necesidad de proporcionar oxígeno a las soluciones cardiopléjicas, continua siendo una cuestión debatida a pesar de estudios experimentales y clínicos (99),(112),(113),(114). El vehículo para aportar el oxígeno puede ser la sangre (114), los fluorocarbonos (115), la hemoglobina libre (14),(103), o el oxígeno disuelto en las soluciones cristaloides (116).

Quizá el más fácil de utilizar desde el punto de vista clínico sea la sangre porque es una fuente fisiológica de oxígeno y está disponible con facilidad en el circuito de extracorpórea pudiéndose efectuar la hemodilución con relativa facilidad.

No obstante existen una serie de problemas en la utilización de las soluciones cardiopléjicas sanguíneas frías como son:

A) Puede producir una probable desviación no deseada en la curva de la disociación de la hemoglobina que resulte en una dificultad de liberación de oxígeno a nivel celular.

B) La posibilidad teórica de hemólisis si la temperatura de la cardioplejia sanguínea está por debajo de los 15⁰C.

C) Una mejor distribución de las soluciones cardiopléjicas sanguíneas en las zonas distales a las estenosis coronarias.

D) Un sistema complejo de liberación de sangre en las soluciones cardiopléjicas.

Respecto a estos problemas de las soluciones cardiopléjicas oxigenadas sanguíneas, se han aportado las siguientes soluciones:

1. La captación de oxígeno supera las necesidades basales por lo menos diez veces a las necesidades metabólicas cuando las infusiones se efectúan a 4⁰C de temperatura a pesar de que el tiempo de pinzamiento aórtico sea prolongado.

2. Las soluciones cardiopléjicas a 4⁰C pueden ser utilizadas durante largos periodos (4 horas) de pinzamiento aórtico como se ha demostrado en estudios experimentales.

3. Si se comparan soluciones cardiopléjicas sanguíneas y asanguíneas, la menor viscosidad de estas se traduce en una menor presión de perfusión aórtica. La mayor presión de perfusión aórtica necesaria en las soluciones cardiopléjicas sanguíneas hace que la distribución del enfriamiento sea mayor y más homogéneo en las zonas distales a las estenosis coronarias.

4. La facilidad de disponer de sangre del circuito de extracorpórea y la posibilidad de mezclarla en un circuito adicional

con rapidez para infundir en la raiz aórtica las cantidades necesarias.

Las ventajas de las soluciones oxigenadas son patentes cuando uno se fija en las cantidades de energía disponible que pueden generar estos métodos. Con las cardioplejias asanguíneas la viabilidad del miocardio depende de pequeñas cantidades de energía disponible que pueden generar estos métodos. Con las cardioplejias asanguíneas la viabilidad del miocardio depende de pequeñas cantidades de energía disponible que pueden generar estos métodos. Con las cardioplejias asanguíneas la viabilidad del miocardio depende de pequeñas cantidades de energía (2 moles de ATP) producidos por el metabolismo anaeróbico. BRETSCHENEIDER ha resaltado la importancia de mantener el metabolismo anaeróbico (36 moles de ATP) mientras el corazón está parado para evitar una pérdida de energía no necesaria. El uso de la sangre como vehiculo de oxígeno en las soluciones cardioplégicas tiene varias ventajas.

a)Mantiene el corazón oxigenado mientras está parado.

b)Permite la reoxigenación del miocardio cuando la solución cardioplégica se vuelve a reutilizar.

c)Evita el daño de la reperfusión.

La importancia en el uso de soluciones cardioplégicas oxigenadas se ha puesto de manifiesto en los trabajos publicados

recientemente. En estos trabajos se comparan soluciones oxigenadas (sangre y fluorocarbóns) con soluciones cristaloides en modelos experimentales que simular problemas clínicos como los producidos por corazones hipertróficos o pacientes con mal función ventricular.

Desde el punto de vista teórico una solución de cardioplejia sanguínea deberá tener una serie de componentes para que la perfusión sea ideal y el tamaño miocárdico que se produzca sea mínimo (117). La concentración final de calcio oscilará entre 400 y 500 $\mu\text{mol/l}$. que se consigue añadiendo una solución de citrato-fosfato-dextrosa, sangre con un hematocrito entre 20 y 30%, cloruro potásico 10-20 mEq/l. THAM para mantener un pH entre 7.5 y 7.6 glucosa superior a 400 mg% y para mantener una osmolaridad superior a 400 mOsm. asparatato y glutamato; en condiciones experimentales se han añadido CoQ_{10} y el diltiazem. El glutamato y el aspartato se utilizan solamente durante la inducción del calentamiento y el calcio se reduce a 150-250 $\mu\text{mol/l}$.

En estudios experimentales y clínicos se ha comprobado la recuperación de la función cardíaca después de un periodo, de 2 horas pinzamiento aórtico, en dos grupos, uno a los que se les había infundido solución cardiopléjica sanguínea y otro con solución cardiopléjica cristalóide de parecida composición a la sanguínea, comprobándose que la recuperación del gasto cardíaco

era mayor y más precoz en los que se utilizó cardioplejia sanguínea, así mismo fué menor la tasa de infarto, de alteraciones electrocardiográficas, y la cantidad de catecolaminas en el postoperatorio inmediato (118), (119). A pesar de estos datos los estudios enzimáticos de estos dos grupos demostraban la existencia de daño miocárdico en los dos grupos sobre todo en corazones patológicos aunque bien es cierto que la severidad del daño fué menor en el grupo de la cardioplejia sanguínea.

ESTRATEGIA QUIRURGICA.

El uso, tanto clínico como experimental, de las soluciones cardioplégicas se ha separado dentro de tres fases:

- A) Inducción
- B) Mantenimiento y distribución
- C) Reperfusion

INDUCCION.

La inducción de la cardioplegia en corazones con razonables reservas energéticas, como suele ocurrir en intervenciones quirúrgicas electivas, se induce con una solución fría de 4°C - 8°C . Se intenta parar el corazón lo más rápidamente posible y producir un enfriamiento transmural efectivo, además de crear las condiciones necesarias para la producción de energía anaeró-

bica entre los intervalos de reinfusión. Pacientes con shock cardiogénico, ventrículos hipertróficos, infartos de miocardio amplios, toleran peor la isquemia miocárdica producida por el pinzamiento aórtico durante la circulación extracorpórea, debido a que tienen una disminución de la reserva energética y de los substratos, no pudiendo mantener un metabolismo celular adecuado cuando se interrumpe el aporte sanguíneo. La cardioplejia sanguínea está particularmente diseñada para pacientes con pérdidas importantes de sus reservas energéticas, ya que disminuye el gasto energético durante la inducción, disminuye el daño producido durante la reperfusión y puede mejorar la recuperación metabólica cuando se administra de forma templada (119). La inducción de la cardioplejia sanguínea en corazones depleccionados de energía es en cierta manera la primera fase de la reperfusión. Periodos cortos de (5 minutos) inducción con cardioplejia sanguínea templada se han utilizado como medidas de resucitación activa en corazones depleccionados de energía, la normotermia optimiza la tasa de reparación celular, y el enriquecimiento de las soluciones cardioplejicas con aminoácidos precursores del ciclo de Krebs del tipo intermedio (glutamato, aspartato) facilitan la utilización del oxígeno (120). Este tratamiento hace que la utilización del oxígeno por el miocardio sea mayor que la efectuada en condiciones basales. Esto se ha comprobado en corazones isquémicos depleccionados de energía después de una anoxia miocárdica normotérmica de 45 minutos, producida por

el pinzamiento aórtico. La técnica de infusión de la cardioplejia sanguínea es sencilla y consiste en pasar la solución a través del intercambiador de calor para calentarla a la temperatura preestablecida. Se ha utilizado la cardioplejia sanguínea templada enriquecida en sustratos, glutamato y aspartato en pacientes con shock cardiogénico o con lesión ventricular avanzado y como última dosis antes de la reperfusión (120).

MANTENIMIENTO Y DISTRIBUCION.

Los beneficios de las soluciones cardioplégicas van encaminadas a asegurar una adecuada y homogénea distribución en el miocardio y a contrarrestar el lavado coronario producido por el flujo mucocoronario durante la isquemia (121). Para evitar este efecto, las reinfusiones se efectuaban cada veinte minutos, así mismo si aparece actividad electromecánica deberá procederse a efectuar nuevas reinfusiones de dosis de cardioplejia para tratar de evitar el consumo de energética (122), (123). La reinfusión periódica tiene una serie de beneficios como son: A) Mantiene la parada electromecánica. B) Restaura la hipotermia. C) Elimina y contrarresta los metabolitos ácidos que inhiben el metabolismo anaeróbico. D) Restaura los sustratos (glucosa, oxígeno, aminoácidos, fosfatos de alta energía) y E) Contrarresta el edema. Las reinfusiones con cardioplejia sanguínea deberían de darse en terminos de tiempo más que en volumen ya que el corazón toma el oxígeno en tiempo más que en dosis de volumen.

El problema de la homogenicidad en la distribución de las soluciones cardioplégicas está sobre todo en los pacientes con enfermedad coronario o corazones muy hipertróficos en los que puede estar dificultada la llegada de la cardioplejia a ciertas áreas miocárdicas. Hilton y colaboradores (124),(125), han demostrado que una mal distribución de las soluciones cardioplégicas en las zonas distales a las estenosis causaban anomalías en la motilidad de la pared ventricular post-isquémicas. El enfriamiento ventricular no homogéneo, menor hipotermia y una actividad electromecánicas persistente en ciertas áreas más allá de estenosis coronarias es frecuente verlas en clínica.

El problema de la distribución de las soluciones cardioplégicas más allá de las estenosis coronarias puede estar contrarrestado por: A) Mediante la práctica de una anastomosis proximal. B) Efectuar la anastomosis distal e infundiendo la cardioplejia a través del injerto. C) Efectuando anastomosis secuenciales distales (126). La zona isquémica debería ser la primera en revascularizar para asegurarse la adecuada protección durante todo el tiempo que dura la isquémica miocárdica. Otra alternativa a este problema es la técnica de cardioplejia retrógrada a través del seno coronario para tratar de conseguir una distribución homogénea de las soluciones cardioplégicas en las zonas post-estenóticas de las coronarias, en pacientes con insuficiencia cardiaca o insuficiencia aórtica (127),(128).

REPERFUSION

Hasta hace poco tiempo los objetivos de la cardioplejia iban dirigidos a prevenir el daño isquémico. Sin embargo ciertos estudios han demostrado que la cardioplejia sanguínea es útil para evitar y prevenir la lesión post-reperfusión. Varios trabajos han puesto en evidencia que la reperfusión con sangre normal producía una severa disrupción en la arquitectura celular y producía arritmias graves (129), (130).

La lesión de la reperfusión se caracteriza por: A) Una acumulación intracelular de calcio. B) Un edema celular con reducción de flujo post-isquémico y de la compliance ventricular. C) Una imposibilidad o dificultad para obtener el oxígeno adecuado a pesar de un flujo coronario adecuado y una cantidad de oxígeno suficiente.

El cirujano cardíaco está sin embargo en la adecuada posición de contrarrestar el daño potencial de reperfusión bajo las condiciones de los componentes del líquido de reperfusión bajo su control inmediato. Estudios experimentales demuestran que el daño de la reperfusión post-isquémica puede disminuir durante la fase inicial de la reoxigenación, mediante un tiempo pequeño

de 3-5 minutos en cardioplegia hemática templada donde el pH ,el contenido cálcico, la osmolaridad, y la composición del substrato están optimizadas. Estos estudios se han confirmado en la Clínica por Teoh y colaboradores.

Se han aplicado una serie de conductas para tratar de disminuir la mortalidad quirúrgica en pacientes con fallo ventricular secundario a shock cardiogénico. A) Una inducción con cardioplejia sanguínea templada para tratar de reparar las pérdidas energéticas antes de la isquemia quirúrgica miocárdica.- B) Cardoplejia multidosis para minimizar las pérdidas energéticas durante el pinzamiento aórtico. C) Enriquecimiento con aminoácidos de las soluciones cardiopléjicas para tratar de recuperar los substratos perdidos durante la isquemia. D) Distribución adecuada de la solución en todo el miocardio (a través de los injertos coronarios según se van constituyendo más allá de las estenosis. E) Utilizar soluciones cardiopléjicas sanguíneas templadas para disminuir el daño de la reperfusión (117), (131).

Los buenos resultados clínicos se deben a una meticulosa aplicación en la isquemia quirúrgica.

REVERSIBILIDAD DE LA LESION MIOCARDICA.

En la mayoría de los casos la inadecuada protección miocárdica se pone de manifiesto cuando se intenta desconectar al enfermo de la circulación extracorporea, comprobándose que la función cardiaca no es la adecuada. Sin embargo en muchos casos

la asistencia circulatoria temporal con la bomba de circulación extracorpórea mejora la situación hemodinámica aunque no en todos los casos la recuperación llega a ser completa. Las necesidades de oxígeno se reducen al pasar al corazón y la liberación de oxígeno simultánea a las células isquémicas, se asegura al mantener una presión de perfusión adecuada. La liberación de abundante cantidad de oxígeno, sin embargo, no asegura que la célula pueda utilizar este oxígeno para reparar el daño isquémico de reperfusión o para restaurar las pérdidas energéticas (132). Se ha comprobado clínicamente que corazones con imposibilidad de desconectarlos de la circulación extracorpórea se han recuperado efectuando una breve parada de 5-10 minutos, mediante la infusión de una dosis de cardioplejia sanguínea a 37°C , sobre todo si la solución estaba enriquecida con aminoácidos intermedios precursores del ciclo de Krebs como ocurre con el glutamato y aspartato.

Estos estudios nos hacen concluir que alguna de las limitaciones del corazón post-isquémico para utilizar oxígeno pueden estar limitadas por la pérdida miocárdica de factores intermedios del ciclo de Krebs, durante la isquemia como ocurre con el glutamato y aspartato (133), (134). La solución cardiopléjica sanguínea a 37°C se ha usado clínicamente para restaurar el metabolismo oxidativo hacia la normalidad y para tratar de normalizar la función contráctil. En esta situación se piensa que el consumo de oxígeno está encaminado hacia los procesos reparativos más que hacia el trabajo electromecánico. También se ha

observado la utilidad en el tratamiento de arritmias ventriculares graves que habían sido refractarias al tratamiento farmacológico y a la desfibrilación (135).

" El corazón se mueve por si solo, y cuando se detiene es para siempre".

Leonardo Da Vinci

Dell'Anatomia, Fogli B

LA HIPOTERMIA COMO METODO DE PROTECCION MIOCARDICA

LA HIPOTERMIA COMO METODO DE PROTECCION MIOCARDICA.

INTRODUCCION.

El efecto de la temperatura sobre la contracción cardiaca en los corazones de los mamíferos fué puesta de manifiesto por Martin , en 1833, (136), Cyon y Ludwing (137) en el laboratorio de Leipzig en 1886, publicaron trabajos experimentales de la influencia de la temperatura en la función contráctil del corazón de la rana, encontrando alteraciones de amplitud en la concentración y en el ritmo cardiaco cuando el corazón se enfriaba (2). Langendorff y Nawrocki (138) en 1897 publicaron el aumento en la fuerza contráctil del corazón cuando el miocardio se enfriaba progresivamente a una temperatura próxima a 20°C .Por debajo de los 20°C la contractilidad decrecía hasta que ocurría la fibrilación ventricular. Estos estudios experimentales se efectuaron a una frecuencia de estimulación de 6 latidos/minuto. Estos autores concluían que la hipotermia afectaba a las propiedades fisiomécánicas del miocardio, así como a las reacciones químicas que aportan energía al sistema contractil.

Hoy sabemos que el efecto inotrópico de la hipotermia es debido a la alteración de varios pasos en el acoplamiento

ciocárdico excitación-contracción. Los cambios en la amplitud máxima y en la duración fueron explicados por Mattiazzi y Nilsson (139) que pensaron que estaban influenciados por la frecuencia en la contracción y por la concentración de calcio intracelular, ya que cuando bajaba la temperatura grandes cantidades de calcio eran liberadas en el espacio miofibrilar, y cuando la hipotermia era coincidente, se produce una inhibición en la movilidad del calcio, permaneciendo este secuestro. Esto hace que las proteínas contráctiles estén expuestas a altas concentraciones de calcio, resultando un aumento de la actividad contractil. La imposibilidad de la hipotermia sin la adicción de otros componentes como el (Potasio y Procaina) de provocar una parada cardiaca inmediata del miocardio, preservando los depósitos de alta energía, explica parcialmente los pobres resultados experimentales observados por los investigadores que utilizaban esta modalidad (35), (140).

La hipotermia también afecta al equilibrio acido-base del miocárdio. Barcroft (141) en 1934, observó alteraciones en el comportamiento de la célula miocárdica relacionadas con la concentración de iones-hidrógeno, y también observó que la velocidad con que se producían ciertas reacciones en el cuerpo variaban con el grado de hipotermia.

Rosenthal (142) en 1948 describió cambios en el Ph de la sangre relacionados con los cambios de temperatura, estos hallazgos ayudaron a comprender las observaciones hechas por

Barcroft. Rosenthal encuentra que por cada grado centígrado de temperatura descendido en el cuerpo de los animales vertebrados, el pH crece alrededor de 0.15 unidades. Hoy sabemos que el equilibrio homeostático busca el mantener un número constante de carga protéica en los comportamientos intra y extracelulares (143). La regulación del estado ácido-base según la temperatura va a variar con la preservación de las actividades celulares dependientes de la función protéica. La unión de substratos a sitios específicos, los activadores e inhibidores de enzimas y el transporte de moléculas están directamente afectados por los cambios que se producen en las proteínas ionizadas (144). Debido a las grandes variaciones que ocurren en el pH durante la hipotermia y que estas pueden producir un daño celular irreversible hay que tenerlas en consideración cuando se intenta preservar el miocardio.

El uso de la hipotermia para preservar el miocardio de la isquemia es un balance entre la conservación energética celular y la preservación miocárdica durante las intervenciones quirúrgicas extracorpóreas, este método fué popularizado durante la década de los años 1960 (145), y la aceptación universal de las soluciones cardioplégicas hipotérmicas para producir la parada electiva cardíaca inmediata no ocurrió hasta pasada la mitad de la década de los 1970. Aunque el hecho de que la hipotermia reduce las demandas de consumo energético, está universalmente aceptado; sin embargo la temperatura óptima para

conseguir el mejor grado de protección miocárdica, así como, la posibilidad de producir lesiones celulares con la hipotermia en la actualidad están debatidas. No todos los efectos de la hipotermia son beneficiosos para el miocardio, se ha demostrado que la hipotermia inactiva la enzima ATPasa que interviene en la bomba sodio-potasio y la del sistema del calcio situado en el sarcolema y en el retículo sarcoplásmico, llevando a una pérdida en el control del volumen celular y pudiendo producirse edema (53), (146). Probablemente otras bombas iónicas son sensibles a la temperatura.

Claramente los efectos de la hipotermia son heterogéneos en el tejido miocárdico. En relación a proporcionar una óptima preservación miocárdica es necesario revisar los cambios biofísicos y químicos que se producen durante la hipotermia.

CAMBIOS BIOFISICOS Y QUIMICOS

El principal efecto del enfriamiento es un progresivo enlentecimiento del movimiento molecular (147). Debido al enlentecimiento metabólico, disminución del consumo de oxígeno y las demandas metabólicas, la estructura celular del miocardio durante la isquemia está respetada. Aproximadamente el 85% del consumo de oxígeno miocárdico es utilizado en el trabajo electromecánico del corazón, por eso la parada química del corazón en diastole con agentes como el potasio, magnesio o prucainamida es un ele-

mento importante que hay que unir a la hipotermia para optimizar la preservación. Aunque la hipotermia puede enlentecer o abolir la contracción miocárdica esto no ocurre con la fibrilación ventricular que puede persistir aún a temperaturas miocárdicas bajas.

La hipotermia es el único componente de que se dispone en las diferentes soluciones cardioplégicas que es capaz de reducir los requerimientos energéticos basales del miocardio. Flaherty y colaboradores (148) han encontrado que a 10°C el metabolismo basal del miocardio isquémico estaba tan reducido que la pCO_2 del espacio intersticial no subía significativamente con controles efectuados después de 60 minutos de parada cardiaca anóxica. Esto prueba que los depósitos de energía de la célula miocárdica estaban bien preservados por la reducción en la hidrólisis del trifosfato de adenosina (ATP). Además el metabolismo de los triglicéridos y de los ácidos grasos, los cuales pueden incrementar la concentración de hidrogeniones a nivel tóxico, también estaban inhibidos por la hipotermia (149).

Finalmente la hipotermia también ha mostrado que puede estabilizar ciertas enzimas lisomales y proteasas que pueden ser activadas con cambios en el pH (150).

Combinando la parada química del miocardio en diastole

con la hipotermia, el consumo de oxígeno global del miocardio isquémico durante la circulación extracorpórea es de 0.27 mls. de oxígeno/minuto por 100 gr. de tejido a 15°C (31). Esto corresponde al 5% de las demandas del corazón trabajando a 37°C. Si el potasio se suprime de la solución cardioplégica el consumo del miocardio a 15°C es de 1 ml. de oxígeno/minuto por cada 100 grs. de tejido. Otros estudios (150), (152) han confirmado que independientemente de la temperatura alcanzada durante la hipotermia el corazón está mejor protegido durante la isquemia global si unido a la hipotermia se ha efectuado una parada cardíaca química precoz en diástole.

Los mecanismos adaptativos que ocurren durante la hipotermia en relación con el consumo y almacenamiento energético dependen de las especies, de los sistemas y de cada órgano en particular permaneciendo oscuros en muchas ocasiones.

Sobre una base puramente física las alteraciones de los procesos bioquímicos, el estado físico de los lípidos, y la solubilidad de los gases respiratorios ocurren como consecuencia de una alteración térmica. El coeficiente de solubilidad de CO₂ por ejemplo, guarda relación con la temperatura; esto es de vital importancia ya que la concentración de hidrogeniones es un factor fundamental en el control de la actividad enzimática y de otras proteínas.

En el año 1884 Van't Hoff demuestra que la velocidad de las reacciones orgánicas se reduce a la mitad cuando la temperatura se reduce en 10°C , e introdujo el concepto de Q_{10} para correlacionar la velocidad de las reacciones y la temperatura. Posteriormente Arrhenius comprobó más tarde que las reacciones bioquímicas no siempre tenían un Q_{10} de 2, y desarrolló la siguiente ecuación.

$$10\log K = -E/2.3 R_t + 10\log A.$$

De forma resumida existe una relación lineal entre el logaritmo de la tasa de proceso bioquímico (K) y el recíproco de la temperatura absoluta. Al medir la velocidad de la reacción a diferentes temperaturas la energía de activación requerida para el proceso puede ser indirectamente determinada. Arrhenius encontró que las reacciones biológicas normalmente tienen un Q_{10} mayor de 3, mientras que las reacciones físicas, como ocurre en la ionización, el Q_{10} es de 1. Los efectos de la hipotermia son por lo tanto el resultado de numerosas reacciones bioquímicas complejas a nivel intracelular con diferentes valores para el Q_{10} .

La hipotermia además de reducir la velocidad de las reacciones químicas, disminuye la fluidez de los lípidos a través de las membranas celulares (153), esto disminuye la capacidad funcional de los enzimas de membrana. Se piensa que la rigidez de la membrana celular a bajas temperaturas es debido al efecto protector de la hipotermia durante la isquemia, el daño de la

membrana celular secundario al edema que se origina por una homeostasis iónica inadecuada, y la existencia de radicales libres oxigenados puede ser prevenida al estabilizar las membranas lipídicas.

El incremento en la solubilidad del dióxido de carbono que ocurre cuando disminuye la temperatura hace que el pH sea más alcalino. Este fenómeno causa un complejo balance en el equilibrio ácido-base de los sistemas biológicos cuando la temperatura disminuye progresivamente. Las consecuencias de estos cambios adaptativos requieren una explicación.

El pH de la sangre de los animales vertebrados tiene una relación entre 0.015 unidades por cada grado centígrado (142). Albery y Lloyd (154) fueron los primeros en demostrar que este comportamiento requería la existencia de sangre con un buffer de un pK de aproximadamente de 7 y una entalpia de ionización de aproximadamente 7 Kcal/mol para mantener una constancia en la relación de $(\text{OH}^-)/(\text{H}^+)$ en un amplio rango de temperaturas. Reeves (155) encontró que un sistema buffer como existe cuando se combinan dos ácidos débiles y dos bases conjugados. Uno de estos sistemas es el ácido carbónico: sistema bicarbonato, y el otro son derivados de imidazol tales como proteínas e histidinas libres (156). Rahn y Reeves (157) también demostraron que el pH de la sangre relacionado con la temperatura exhibía un paralelismo marcado como ocurre con el pH neutro del agua y la

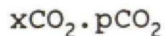
temperatura.

En otras palabras los líquidos, tanto extra como intracelulares muestran una alcalinidad sanguínea constante en relación al pH neutro del agua.

Las propiedades bioquímicas que son el centro de la regulación fisiológica del pH, son el estadio de carga del imidazol y la histidina (158). La pendiente de la curva del pH en relación a la temperatura es una función primaria de la entalpia de disociación del ión hidrógeno de los grupos imidazolicos. Sin embargo, el punto de estabilización del pH depende en gran parte de la relación del sistema bicarbonato-ácido carbónico (159). Esto es un mecanismo eficiente debido a que ambos componentes son relativamente poco caros metabólicamente, ellos se intercambian rápidamente para regular el pH de una forma que dependa de la temperatura para preservar los grupos histidina-imidazol a nivel intracelular en un estado en el que estén ionizados aproximadamente la mitad (160). La relación del ácido carbónico en el sistema bicarbonato en relación con el pH fué descrita por la ecuación de Henderson-Hasselbalch.



$$\text{pH} = \text{pK} + \log$$



Esta ecuación tiene dos variables térmicas importantes el pK del ácido carbónico y la solubilidad del dióxido de carbono

($x\text{CO}_2$). Al reducir la temperatura miocárdica la solubilidad del CO_2 aumenta y disminuye la presión parcial del CO_2 . Así mismo pK del sistema buffer intracelular aumenta, haciendo que el pH intramiocárdico suba. El CO_2 intracelular al contrario que el ión hidrógeno y el bicarbonato difunde muy bien a través de la membrana al espacio extracelular (161). La posibilidad de que la hipotermia aumente la solubilidad del dióxido de carbono y su movilidad hacia el comportamiento extracelular hace que aumente la capacidad buffer del sistema bicarbonato. Así el sistema bicarbonato funciona para mantener la disociación fraccionada de los grupos de imidazol constantes aunque cambie la temperatura. Por ello las reacciones enzimáticas que necesiten de grupos histidínicos pueden efectuarse a temperaturas menores a los 37°C , si se mantiene un pH alcalino respecto al neutro del agua. Se ha visto que el miocardio isquémico a temperaturas de 20°C es capaz de sintetizar fosfatos de alta energía si existen sustratos en la solución cardiopléjica (162). En la actualidad aún no está aclarado que sea esta la mejor estrategia para obtener la preservación miocárdica ideal.

Las funciones enzimáticas son óptimas cuando la constante de Michaelis (k_m) se mantiene en un estrecho rango para preservar la capacidad del sistema enzimático (163) cuando el pH se mantiene constante, independientemente de la temperatura el (k_m) de una enzima varía ampliamente con la temperatura (164). Sin embargo, se ha visto que cuando el pH de un sistema biológico

se le permite variar de acuerdo con la temperatura, según la curva de Rosenthal el K_m del sistema enzimático se mantiene sobre un amplio rango de temperaturas, permitiendo que las funciones celulares sigan adelante con diferentes estados térmicos. Debido a que la disociación del imidazol se mantiene constante con diferentes temperaturas, por los cambios del pH en el sistema buffer y por la capacidad buffer del sistema bicarbonato el K_m de la mayoría de los sistemas enzimáticos en el miocardio puede ser preservado a temperaturas menores de 37°C .

Las histidinas son constituyentes comunes en los lugares donde se activan las enzimas, por ello los fenómenos de hidrogenación del grupo histidina-imidazol afecta prácticamente a todos los radicales, histidina que existen en una proteína. La histidina no necesita necesariamente estar relacionada con el sitio de activación de la enzima para preservar unos valores de K_m óptimos con cambios en el pH (165). Esto es posible debido a la estructura cuaternaria de los enzimas y a la configuración de la subunidad que también se alteran por la temperatura y por los cambios del pH. Estos cambios hacen que la superficie de los enzimas se modifiquen, así como su capacidad de interactuar con otras estructuras celulares, como las membranas, y que se preservan las proteínas contráctiles retardando el efecto de la hipotermia en la tasa de catalización.

No todos los tejidos tienen la misma relación temperatura-pH (166). De hecho cada comportamiento intracelular puede tener diferentes relaciones temperatura-pH. Aunque el pH intracelular y la temperatura son muy difíciles de medir, la relación descrita por Rosenthal se cree que es correcta, tanto para niveles intracelulares como extracelulares, la regulación del pH durante la parada cardiopléjica es mantenida por los cambios de temperatura que afectan al pK del sistema buffer bicarbonato y a la concentración de dióxido de carbono.

Se ha visto que los mamíferos que hibernan deben mantener un pH anormal cuando su temperatura corporal baja próxima a los 5°C (167). A esta temperatura se podría pensar en la existencia de un pH de 7.9 y no del real que es de 7.4, por lo que estos animales mantienen una relativa acidosis durante la hibernación. Esta estrategia puede ser adecuada ya que este pH inadecuado causa una disminución de la actividad enzimática y de los requerimientos enzimáticos. La estrategia de la hibernación es similar a la que se emplea en la preservación del miocardio con soluciones cardiopléjicas en la parada cardiaca anóxica durante las intervenciones quirúrgicas mientras la circulación extracorpórea.

La decisión de mantener un miocardio isquémico en hipotermia en un relativo estado de acidosis depende de futuros estudios experimentales. Si los objetivos de la isquemia son: de mantener la función enzimática, estabilizar la relación de Donnan para

prevenir el edema celular y mantener una carga constante neta de imidazoles, el estado de crear una alcalosis relativa como predice la curva de Rosenthal debe producir una superior preservación de los órganos (168). Sin embargo, no se han efectuado estudios control apropiados para valorar esta afirmación; por otra parte los diferentes componentes de cada solución cardiopléjica pueden alterar el resultado final de la protección miocárdica. La ventaja de mantener el miocardio isquémico en hipotermia con un pH alcalótico fué demostrado por Bretschneider (169) el cual empleaba histidina como buffer en las soluciones cardiopléjicas y comprobó que la función contractil del ventrículo izquierdo se reestablecía en mejores condiciones.

La respuesta lipídica de las membranas a la hipotermia es otro factor importante para la adaptación celular. Generalmente las membranas celulares están constituidas por dos capas de lípidos que incluyen en su interior otra capa protéica (170). En normotermia las membranas lipídicas están en estado líquido, permitiendo una máxima libertad de los complejos lipídicos enzimáticos que están unidos a la membrana. La naturaleza de las membranas lipídicas juega un papel muy importante al establecer las propiedades de estos enzimas a diferentes temperaturas. Para mantener fluidas las membranas lipídicas durante la hipotermia debe existir previamente un proceso de adaptación homeoviscosa. Este proceso está relacionado con una disminución de la

saturación o lo que es lo mismo un aumento del contenido de uniones dobles en la membrana que lo lleva a una mayor fluidez de los lípidos.

Este método de adaptación es característico de un proceso evolutivo más que de un proceso rápido de adaptación disponible a las proteínas. Así los lípidos miocárdicos durante la parada isquémica anóxica cardiaca hipotérmica están en un estado de gel más que en un estado móvil (líquido). Las consecuencias bioquímicas y biofísicas de cambiar el microhabitat lipídico y que las proteínas funcionen en las membranas está bien documentado (171). Las funciones protéicas y las enzimáticas se efectúan de mejor modo cuando el medio es relativamente líquido. Al disminuir el movimiento molecular con la hipotermia las funciones eléctricas y de transporte de las membranas celulares se dificultan ampliamente. El Q^{10} de la reacción química unida a la membrana se aumenta, reduciendo así mas el consumo de oxígeno por el tejido isquémico. Por otro lado la transición de la fase líquida del lípido hacia el estado de gel con la disminución de la temperatura se ha visto que proporciona una adecuada protección miocárdica durante las lesiones de reperfusión (172). Esta transición se ha visto que tiene lugar a temperaturas de 30°C o más bajas. La estabilización de las membranas lipídicas con la hipotermia y la inhibición consecuente de la actividad metabólica puede ser causa de algunas ventajas atribuidas técnicamente a las soluciones cardioplégicas oxigenadas.

Entre los mecanismos que se creen responsables del desarrollo de la lesión miocárdica durante la hipotermia estan: la inactivación de la bomba de iones, la desnaturalización y desplegamiento de las estructuras moleculares de las proteínas y la cristalización. Leaf (53) argumentó que el edema de la célula miocárdica debido a la hipotermia se debe a una inactivación de la bomba sodio potasio dependiente del sistema del ATP.

Además de la alteración en la arquitectura intracelular se pensó que la microcirculación estaba tambien alterada por este mecanismo. Sin embargo el significado del edema celular como mecanismo causante de disfunción miocárdica postoperatoria irreversible no está bien documentada y no ha sido confirmada por otros autores (173).

Pace y Tanford (174) describieron desnaturalización y desplegamiento de las proteínas a temperaturas mayores de 40°C y menores de 25°C secundarias a una rotura de enlaces covalentes y pérdida de la estructura terciaria de la proteína. Estos hallazgos indican que la exposición del corazón a temperaturas más bajas de 25°C puede causar un daño enzimático irreversible. Claramente esto contrarrestaría los potenciales beneficios obtenidos por una disminución de la tasa metabólica basal. Sin embargo la evidencia experimental (175), (176) ha demostrado que poniendo cuidadosa atención en el método de administración y

composición de la solución cardiopléjica la hipotermia en sí misma no es lesiva para el miocardio.

Otro riesgo de la hipotermia es el daño intracelular causado por la congelación (177). Cuando el agua intracelular se congela la concentración de varios solutos cambia bajando con ello el punto de congelación. Los procesos de congelamiento intracelular son heterógenos; diferentes complejos iónicos precipitan a diferentes temperaturas, como resultados los cambios en el pH del agua residual varían ampliamente cayendo en ocasiones por abajo de 4. Estas variaciones tan extremas son una causa importante del daño celular que produce los pequeños cristales de hielo. Esto es especialmente así, si el proceso de congelación es progresivo a causa de que la formación de cristales tenderá entonces a ser extracelular más que intracelular. En definitiva el mecanismo del daño celular causado por la congelación es el resultado de cambios bruscos osmóticos que producen la ruptura de las membranas celulares.

Varios autores (178), (179) han referido consecuencias fatales en pacientes que durante la intervención quirúrgica el corazón se había rodeado de hielo. Esta circunstancia debe ser tomada en cuenta para evitar la congelación del miocardio.

TEMPERATURA OPTIMA PARA LA PRESERVACION DEL MIOCARDIO DURANTE LA PARADA ISQUEMICA QUIRURGICA ANOXICA.

Es difícil el control de la temperatura cardiaca en el vivo, entrando a jugar parte un gran número de factores, tales como el peso, el grosor de la pared torácica, la forma geométrica del corazón, la existencia de lesiones coronarias importantes y la fibrosis miocárdica (180). La temperatura y el flujo de la solución perfundida puede modificar la temperatura final. Por último existen una serie de factores externos como la pérdida de calor ambiental, el recalentamiento mediastínico, y el enfriamiento tópico del saco pericárdico afectan a la temperatura miocárdica.

Es bien conocido que el enfriamiento tópico aislado es inefectivo para preservar el endocardio del ventrículo izquierdo, particularmente cuando existe hipertrofia ventricular (181). Parece ser que la existencia de lesiones coronarias severas es un factor limitante en el enfriamiento uniforme cuando se emplean soluciones cardioplégicas intracoronarias.

Varios autores (182) no han encontrado uniformidad en la temperatura miocárdica con la presencia de estenosis coronarias. Por el contrario otros autores (183) han encontrando uniformidad en la distribución de la temperatura miocárdica a pesar de existir lesiones coronarias siempre que la cantidad de solución car-

diopléjica administrada fuese suficiente. Rosenfeldt y Watson (184) demuestran que la variable más importante en relación con el recalentamiento endomiocárdico era la temperatura a la que se infundía la solución cardiopléjica. Cuando se enfriaba la solución el gradiente entre el epicardio y el endocardio se reducía. Temperaturas bajas de las soluciones perfundidas permiten bajar con cierto grado de seguridad el flujo sistémico con lo cual inhibimos el recalentamiento endomiocárdico.

La mayoría de los estudios (34), (185), (186) generalmente están de acuerdo en que la máxima protección miocárdica durante la parada cardíaca anóxica en la circulación extracorpórea se consigue entre 10°C y 20°C . Las bases de este argumento se fundamentan en datos experimentales y en hallazgos clínicos. Como la temperatura final obtenida en el miocardio depende de la interacción de la hipotermia sistémica, de la parada quirúrgica del corazón, de la composición de la solución cardiopléjica y de la temperatura además de otros factores son el resultado de que los estudios no sean congruentes.

Tyers y colaboradores (35) usando una preparación aislada de corazón encontraron que temperaturas cardíacas entre 4°C y 20°C se producía una peor preservación que si la temperatura era de 10°C y 15°C . Ellos atribuyeron estos resultados a que por debajo de 4°C se producía una inactivación irreversible de la enzima ATPasa de la que depende la bomba de Sodio-Potasio. Es

importante el indicar que las soluciones intracoronarias usadas en estos experimentos no contenían elementos capaces de producir una parada cardiaca inmediata en diástole. Una explicación alternativa de los resultados obtenidos a 4°C es la existencia de una persistente fibrilación combinada con la imposibilidad de secuestrar calcio del retículo endoplásmico por el miocardio frío, causando aumento en la tensión de la pared del ventrículo izquierdo y estimulando la degradación de los depósitos de alta energía.

Shragge y colaboradores (52) bajaron progresivamente la temperatura miocárdica "in vitro" hasta 0.5°C y no encontraron disminución significativa en la concentración de ATP, o en los almacenes de glucógeno en relación con corazones no anóxicos. Estos autores concluyen que la hipotermia en ausencia de isquemia no es dañina para el miocardio. También estos hallazgos han sido confirmados por otros autores (187), (188).

Hearse y colaboradores (33) encuentran una adecuada preservación de la función del ventrículo izquierdo con hipotermias debajo de 20°C . Sin embargo estos hallazgos no son aplicables en clínica debido a que el tiempo de anoxia fué de 60 minutos en una preparación aislada de corazón de rata. Estudios clínicos (189) han demostrado que corazones humanos con enfermedad isquémica y una parada cardiaca anóxica por encima de 90 minutos producía una deplección significativa en los depósitos de alta ener-

gia.

Aunque el metabolismo cardiaco es bastante lento a temperaturas inferiores a 10°C , la recuperación funcional en el corazón aislado de rata preservado a esta temperatura ha sido descrito como significativamente no superior que corazones preservados a temperaturas septales de 27°C (190). Temperaturas miocárdicas alrededor de 27°C pueden ser suficientes para proporcionar una adecuada protección miocárdica cuando el periodo de pinzamiento aórtico es corto. Harlan y colaboradores (191) encuentran que cuando el periodo de isquemia es largo a temperaturas próximas a 5°C se produce la máxima preservación. Otros estudios clínicos (192) muestran que en vivo la máxima protección miocárdica para un periodo de isquemia de 120 minutos está alrededor de 15°C , los factores estudiados en este experimento fueron, función hemodinámica, depósitos de alta energía y ultraestructura mitocondrial. Temperaturas debajo de 10°C se asociaron con reducción de la función hemodinámica, posiblemente debida al inapropiado manejo del equilibrio acido-base, y a la existencia de congeladuras en el epicardio. Se puede sacar varias conclusiones de los estudios anteriores:

A) La hipotermia no produce daños cardiacos, salvo que se produzcan lesiones por congelación.

B) En presencia de isquemia miocárdica las soluciones empleadas deben producir una parada diastólica inmediata para

optimizar la preservación.

C) Corazones normales con un tiempo de isquemia límite de 60 minutos solo requieren control septal de temperatura no inferior a 25°C .

D) Cuando el tiempo de isquemia global es superior a 90 minutos y existe disminución de la función ventricular es preciso bajar la temperatura por debajo de los 25°C .

E) El conseguir temperaturas miocárdicas por debajo de los 10°C suelen requerir grandes cantidades de solución cardioplégica que pueden producir daño miocárdico y no disminuyen por otra parte significativamente el consumo energético.

Ultimamente se ha sugerido que el periodo de seguridad durante la isquemia global puede ser aumentado mediante la adicción de oxígeno a las soluciones cardioplégicas para contribuir a las demandas metabólicas pequeñas, pero constantes del corazón anóxico. (114). A 15°C de temperatura miocárdica el consumo de oxígeno del miocardio isquémico es de 0.27 mls. de oxígeno/minuto por 100gr. de tejido. La cardioplejia cristaloides proporciona a 10°C 0.86 ml de oxígeno por 100 ml de solución (193); por lo tanto, salvo que un gran volumen de solución cardioplejica sea administrada en la circulación coronaria, el déficit de oxígeno miocárdico se producirá en pocos minutos. (99), (194).

Teóricamente las ventajas de las soluciones cardioplégicas oxigenadas, bien sean sanguíneas o cristaloides, son las de

mantener la respiración celular y la fosforilización oxidativa durante la parada cardiaca anóxica. Esto contrasta con los principios de la hibernación, los cuales consisten en parar reversiblemente las funciones celulares.

El oxígeno, físicamente disuelto en soluciones asanguíneas, ha sido criticado, debido a que esta técnica puede producir embolizaciones gaseosas intracoronarias (195), soluciones cardiopléjicas que contienen hemoglobina en su composición tienen la ventaja de ser fisiológicas. Estas soluciones tienen las propiedades de tener presión oncótica normal, sistemas buffer fisiológicos y composición iónica similar a la de la sangre. Un problema que plantean las soluciones cardiopléjicas sanguíneas es el de la liberación del oxígeno cuando la temperatura de la solución baja de 20°C de temperatura. Digerness (193) ha demostrado que la disponibilidad de la hemoglobina para liberar oxígeno disminuyen marcadamente cuando la temperatura decrece. Por ejemplo, a 10°C solo la tercera parte del total de contenido de oxígeno (9.8 ml/O₂/100 ml) está disponible para los tejidos, por esta razón hay que pensar que los dos factores esenciales que hay que controlar para manejar adecuadamente la parada cardiaca anóxica e hipotérmica son: que aunque el metabolismo celular esté enlentecido éste funciona continuamente, y que para que el metabolismo funcione se necesita oxígeno continuamente. Es dudoso que las soluciones cardiopléjicas sanguíneas, a temperaturas inferior a 20°C sean superiores a las soluciones asanguíneas. A

temperaturas inferiores es difícil demostrar la superioridad de una u otra técnica debido a que las demandas metabólicas del miocardio son bajas.

PROPOSITO DEL TRABAJO

PROPOSITO DEL TRABAJO.

El principal problema durante la parada cardiaca isquémica en el contexto de la cirugía cardiaca es conocer el grado de efectividad "in situ" de la protección miocárdica que estamos proporcionando.

Esta efectividad se traduce en dos aspectos fundamentales: el primero es conocer el grado de lesión miocárdica que se está produciendo durante la isquemia, y segundo, y mas importante que el primero es tratar de averiguar si las lesiones producidas se acercan a la barrera de la irreversibilidad funcional del corazón.

Existen métodos eficaces para conocer el grado de lesión miocárdica que se produce en la parada cardiaca isquémica durante la circulación extracorpórea. Estos métodos fundamentalmente son dos: Por un lado están los estudios bioquímicos de miocardio que traducen las alteraciones metabólicas que se están produciendo, y por otra parte, los estudios microscópicos para averiguar el grado de lesión histopatológica. Sin embargo estos métodos precisan de tiempo para practicarlos y los resultados siempre los obtenemos a posteriori, en cualquier caso una vez que ya ha finalizado la circulación extracorporea, o que el proceso de lesión ha pasado la barrera de la irreversibilidad.

Existen dos hechos que se producen durante la parada cardíaca isquémica y que son progresivamente evolutivos en la medida que se produce la lesión miocárdica. Uno de estos hechos es la tendencia que tienen las células de los tejidos en general y el miocito en particular a producir acidosis debido a la generación continua de iones hidrogeno. El otro es el grado de contracción o contractura muscular que se va produciendo a medida que progresa la lesión miocárdica, siendo la máxima expresión de este proceso la contractura isquémica del corazón o "stone heart" descrito por Cooley en 1972.

Para tratar de llevar a la práctica esta idea, se utilizaron diferentes modelos de protección miocárdica, monitorizando el pH miocárdico y la contracción muscular con un transductor sensible de presión, durante el tiempo que duraba la isquemia. Al mismo tiempo se tomaron muestras biopticas del endocardio de ventrículo izquierdo para medir las alteraciones metabólicas mediante el estudio bioquímico de fosfatos de alta energía (adenosin trifosfato y creatin fosfato) y por otro lado para estudios morfológicos estructurales y ultraestructurales mediante microscopía óptica y electrónica.

El propósito de este trabajo consiste en valorar estos dos parámetros (acidosis y contracción muscular) para utilizarlos en la clínica como índices indirectos del grado de lesión miocárdica y sobre todo tratar de determinar los límites en los cuales la

lesión se aproxima a la barrera de la irreversibilidad.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

SELECCION DEL ANIMAL DE EXPERIMENTACION

Se eligió el perro como animal de experimentación, por ser este de fácil obtención, bajo precio y pequeño coste en el mantenimiento, así como uno de los mejores animales para la cirugía cardiaca con circulación extracorporea.

Se utilizaron 30 perros mestizos de edad indeterminada y de acuerdo con las siguientes características:

- 1º Peso comprendido entre 20 y 30 Kgs.
- 2º Buen aspecto general.
- 3º Temperatura esofágica al comenzar la intervención quirúrgica de 38°C o inferior a esta temperatura.
- 4º Deposición y orina de aspecto y color normal.
- 5º Electrocardiograma basal normal.

Todos los animales que cumplieron estos requisitos fueron mantenidos en ayunas 18 horas previamente a la intervención quirúrgica. El mismo día se rasuraron las zonas operatorias.

TECNICA ANESTESICA

La inducción anestésica fue realizada mediante la infusión

endovenosa, a través de la vena antecubital de una de los miembros delanteros de 25 mg/kg de peso de Tiopental Sódico, que se repitió en pequeñas dosis (25 - 30 mgs) siempre que fuese necesario.

Los animales fueron intubados mediante tubo orotraqueal Rush y ventilados mediante un respirador HARVARD-630. La relajación se efectuó con Succinil Colina a razón de 1 mg/kg de peso.

Periódicamente se realizaron determinaciones de gases y de pH en sangre arterial, modificándose la frecuencia y el volumen corriente del respirador a fin de mantener una pO_2 superior a 100mm de Hg y una pCO_2 entre 30 y 40 mm. de Hg y un pH de 7.35 ± 0.15 .

La anestesia se mantuvo con N_2O y O_2 a una proporción de 50%, manteniéndose la relajación muscular con Bromuro de Paneuronio 0.1 mg. por kg. y la analgesia se realizó con fentanilo a dosis de 0.04 microgramos por kg.

TECNICA QUIRURGICA

PREPARACION DEL CAMPO QUIRURGICO

Previo anestesia general se colocó el animal en decúbito lateral izquierdo y se rasuraron ampliamente el hemitorax y las

regiones inguinales.

MONITORIZACION

Se disecaron previamente las arterias y venas femorales derechas e izquierdas, pasándose cintas e introduciendo un catéter flotante a su través hasta la arteria pulmonar (Baltherm Thermal Dilution Catheter, Electro Catheter Corp) para la medida del gasto cardiaco post-circulación extracorporea. Así mismo, a través de la misma vena femoral se introdujo un catéter Portex de 2 mm. de diámetro hasta la aurícula derecha, para medida de presión venosa central, y utilización como vía para la infusión de medicamentos, si fuera preciso.

La arteria femoral izquierda fue empleada para medir la presión arterial por medio de la introducción de un catéter de Portex de 2 mm. de diámetro, conectado a un transductor de presión (Statham pressure transducer SP-37).

La temperatura muscular y esofágica fueron monitorizadas con un Teletermómetro Shiley (Temperature Monitor) y la Sonda utilizada fue un (Disposable Myocardial Probe 15 mm. DPM). Así mismo se monitorizó la temperatura Venosa, Arterial y del Quirófano mientras duró el experimento CRAFTICO 13.

Una vez monitorizado el animal con: presión venosa central, presión arterial, E.C.G., temperatura esofágica y temperatura

muscular, se procedió a realizar una toracotomía derecha, por el quinto espacio intercostal. El saco pericárdico se abrió longitudinalmente, paralelo y por delante del nervio frénico derecho, fijándose sus bordes con puntos de tracción a piel, consiguiéndose así una inmovilización y elevación del corazón que, como es sabido, bascula con gran facilidad dentro de la cavidad torácica del perro.

A continuación se realizaron bolsas de tabaco en vena cava superior e inferior y se pasaron cintas a través de la aorta ascendente y de ambas cavas.

Se heparinizó el animal con 3 mgs. de Heparina Sódica por Kg. de peso, medicación que se repitió cada hora a razón de 1 mg/kg. de peso, mientras duró la circulación extracorporea.

Transcurridos cinco minutos, se introdujo en la arterial femoral común derecha una cánula Uscci 27/462 y dos cánulas de Rigg 4A/278, tanto en la vena cava superior como en la inferior a través de las bolsas de tabaco practicadas en la aurícula derecha. Posteriormente se conexionaron las cánulas con el circuito de circulación extracorpórea y se conectó el animal con la máquina de circulación extracorpórea, efectuando una hipotermia progresiva, evitando que el gradiente térmico entre la sangre que le era infundida al animal y la monitorizada como temperatura muscular no fuera superior a 5°C para evitar la fibrilación ventricular. El intercambiador de calor utilizado fue

un modelo B, Braum Melsuger.

Una vez que el corazón fibriló o bien se consiguió una temperatura esofágica de 25°C, se elampó la raíz aórtica proximalmente al tronco innominado arterial y se descomprimieron tanto las cavidades cardíacas izquierdas (a través de la vena pulmonar superior derecha) como las derechas (a través de la aurícula derecha) para homogeneizar los grupos y para evitar lesiones miocárdicas que pudieron influir en los resultados.

INFUSION DE LAS DIFERENTES SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS

Las distintas soluciones cardioplégicas fueron infundidas a través de la raíz aórtica. No se utilizó en ningún caso la infusión a través de los "ostium" coronarios y el seno coronario. Se utilizó un reservorio con una bomba rotatoria y un intercambiador de calor, así como un filtro atrapa burbujas y un manómetro conectado a la línea de infusión (Fig. 4 A y B) y (Fig. 6). La presión de infusión siempre fue inferior a 120 mm. de Hg. para evitar lesiones por hiperpresión (Fig. 4A y Fig.6). La temperatura de infusión fue a 5.3 ± 1.8 °C.

Los animales se distribuyeron en 6 grupos de 5 perros cada uno, a los que se les administró 6 tipos diferentes de soluciones.

El primer grupo lo utilizamos como control y sólo se

administró la solución para producir hipotermia, para lo cual utilizamos el Ringer lactato con la siguiente composición: mmol/l aproximado Sodio 130, Potasio 4, Calcio 1.5, Cloro 109 y Lactato 28. mOsm/l aproximada de 272 y el pH de 6.5.

En el segundo grupo utilizamos una de las primitivas soluciones de Bretsneider con la siguiente composición en mmol/l aproximado Cloruro Sódico 12, Cloruro Potásico 10, Cloruro Magnésico 2, Cloruro de Procaína 7.4, Manitol 239. Osmolalidad de 290-320 mOsm/l y pH 6.3.

En el tercer grupo utilizamos una solución tipo St. Thomas con las siguientes características bioquímicas. mmol/l Sodio 110, Potasio 16, Magnesio 16, Calcio 1.2, Bicarbonato 10, Lidocaina 1. Osmolalidad de 324 mOsm/l y pH de 7.8.

En el cuarto grupo utilizamos la cardioplejia utilizada en la Clínica Puerta de Hierro con las siguientes características mmol/l Sodio 84, Potasio 30, Cloro 110, Calcio 0.53, Manitol 262 y Bicarbonato Sódico de 30, Glucosa Anhidra 5gr/l y una mOsm/l de 301 y pH de 6.8 (Figura 4A y Figura 6).

En el quinto grupo utilizamos una solución cristaloide tipo C.P.H. a la que administramos una infusión burbujada a 10 l/minuto de oxígeno y que posteriormente la desburbujamos con un atrapa burbuja como el de la Figura 4C y Figura 6; y en el grupo sexto utilizamos una solución mezcla de sangre procedente de la

línea arterial (que previamente habíamos sacado hacia el reservorio) y de una solución de cardioplejia cristalóide cuya composición final fue de mmol/l: Sodio 135, Potasio 30, Cloro 110, Calcio 0.6, mOsm/l de 355 y pH de 7.4, Hemoglobina de 20% y Hematocito de 18 gr/l (Fig. 4B).

La primera infusión se efectuó al inicio de la isquemia miocárdica, cuando la temperatura muscular fue de 25°C o en el momento de la fibrilación ventricular si esta se produjo antes de que hubiera el miocardio alcanzado esta temperatura. La dosis utilizada fue de 15cc por kg. de peso del animal.

Se monitorizó la presión de infusión en la raíz aórtica y ésta siempre fue inferior a 120 mm de Hg. La solución de cardiopléjica se repitió siempre que la temperatura cardiaca del septo fue superior a 20°C.

El tiempo de isquemia fue de 180 minutos desde el pinzamiento de la aorta hasta el inicio de la reperusión (despinzamiento aórtico). No se utilizó la hipotermia tónica tipo Shumway para tratar de homogeneizar los grupos, lo más posible.

MONITORIZACION DE LA TEMPERATURA MIOCARDICA

Se monitorizaron continuamente 8 puntos miocárdicos de temperatura de los dos ventrículos. Tres puntos de ventrículo izquierdo (proximal, medio y distal); tres puntos de ventrículo

derecho (proximal, medio y distal) y dos del septo (proximal y distal) (Figura 3B y Figura 5A).

Se utilizó un termómetro Shiley (Temperature Monitor) y un probe de 15 mm. (Disposable Myocardial Probe) (Figura 5B).

MONITORIZACION DEL pH

La monitorización continua del pH miocárdico se efectuó con un peachimetro CRISON (MicroPH 2002) (Figura 3C) y el electrodo utilizado fue de cristal con un diámetro de 1.5 mm. modelo ETO 126 (Figura 5A). El rango oscilaba entre 0.5 y 14, con un tiempo de respuesta de 20 segundos.

El electrodo se implantó en el miocardio del tercio proximal del septo interventricular. Se tomaron 6 medidas antes del inicio de la isquemia que utilizamos como valor control y otras seis a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos del inicio de la isquemia. En la tabla III aparecen los valores medios del pH con la desviación standard.

MONITORIZACION DE LA CONTRACCION MIOCARDICA

El grado de contracción miocárdica fue medido con un transductor de presión Modelo Scheavitz, serie P-3000. Se trata de un transductor de presión de tipo diferencial cuyo rango de medida oscila de 0 a 3 mm de Hg y el error máximo cometido por el transductor es menor que 0.015 mm de Hg. La Sonda

intramiocárdica utilizada es el modelo que utiliza el aparato y corresponde a la serie TPP-124-AK (Figura 3B).

Se monitorizó la presión intramiocárdica a nivel de la pared del ventrículo izquierdo (Figura 6). Construimos una escala de 0 a 100, siendo 0 los valores obtenidos al inicio de la isquemia miocárdica después de perfundida la primera dosis de cardioplejia y 100 el valor de la máxima contractura obtenida a los 180 minutos de isquemia hipotérmica. Se tomaron 6 valores en cada grupo a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos de iniciada la isquemia y se calculó la media con su desviación standard.

MEDIDA DEL GASTO CARDIACO POSTOPERATORIO

Se introdujo un catéter flotante a través de la vena femoral derecha hasta la arteria pulmonar (Baltherm Thermal Dilution Catheter, Electro Catheter Corp) para medición del gasto cardiaco. Para ello fue inflado con 1.5 cc de aire y avanzado desde la aurícula derecha hasta la arteria pulmonar a través del ventrículo. En todos los casos el tamaño del catéter fue 7F, con una longitud de 110 cm. y manufacturado en cloruro de polivinilo radioopaco con una frecuencia natural relativamente baja (16 a 22 Hz) y está provisto de un sensor de temperatura en su extremo distal. La medición del gasto cardiaco se efectuó por hemodilución mediante la aplicación de la ecuación de Stewart-Hamilton.

$$Q = V_i (T_s - T_i) K_1 \cdot K_2 / T_s (t) dt$$

Donde: Q = Gasto Cardíaco

V_i = Volumen inyectado

T_s = Temperatura de la sangre

T_i = Temperatura de la inyección

K_1 = Factor de densidad

K_2 = Constante de computación

$T_s(t)dt$ = Cambio en la temperatura de la sangre en función del tiempo.

La solución de esta ecuación es realizada por el ordenador de gasto cardíaco (Cardiac, Output Computer 4000, Electro Catheter Corporation) (Figura 3A), que integra el área bajo la curva de termodilución y lo señala en dígitos en litros/minuto. El gasto cardíaco es inversamente proporcional al área bajo la curva.

La inyección habitual fue de 10 ml. de destrosa al 5% a temperatura entre 4° y 11°C. Para el cómputo de gasto cardíaco se realizaron cuatro inyecciones por el extremo proximal, de las que fue desechada la primera, obteniéndose después la media aritmética de las tres restantes. Todas las inyecciones fueron realizadas en el mismo momento del ciclo respiratorio y en menos de cuatro segundos.

Se midió el gasto cardíaco bajo anestesia general una vez monitorizado el perro y antes de entrar en circulación extracorporea. Los valores obtenidos los utilizamos como control

(Tabla V). Una vez despinzada la raíz aórtica al finalizar el tiempo de isquemia (180 minutos) se repitieron las medida del gasto cardiaco a los 30, 60 y 90 minutos de reperfusión. No se utilizaron inotrópicos para no producir alteración en la estructura histológica celular y en el gasto cardiaco que pudiera modificar los resultados.

ESTUDIOS METABOLICOS. ADENOSIN-TRIFOSFATO (ATP) Y CREATIN-FOSFATO CP)

Se extrajeron de cada perro 6 biopsias procedentes del endocardio del ventrículo izquierdo. Las muestras se obtuvieron con una pinza de biopsia (Biopsy Forceps Cordis) de 7 frenchs, 5.3 mm³, modelo 502-302L (Figura 5B) introducida en el ventrículo izquierdo a través de una bolsa de tabaco en la raíz aórtica. La toma de las biopsias se efectuó antes de iniciarse el periodo isquémico y a los 60, 90 y 120 minutos, posteriormente en el periodo de reperfusión se obtuvieron a los 30, 60 y 90 minutos. Se cuidó de tomar las muestras biópticas de zonas no lesionadas del miocardio y no se intentó cerrar los lugares de la biopsia. La biopsia obtenida se enfrió de inmediato en nitrógeno líquido, la muestra de biopsia congelada se pesó posteriormente en una balanza de torsión a 20°C y se pulverizó en un mortero enfriado previamente en unión de ácido perclórico 0.6N congelado. Se dejó descongelar el polvo hasta 0°C en un baño de acetona frio, y se obtuvo por centrifugado el extracto de ácido perclórico, que se neutralizó y completó hasta alcanzar 10 ml. Los niveles de ATP

y CP se determinaron por el método calorimétrico de Lamprecht y Trautschold (196).

ESTUDIOS ANATOMOPATOLOGICOS (ULTRAESTRUCTURALES. MICROSCOPIA OPTICA. GLUCOGENO)

Se tomaron de cada perro 10 muestras biópticas, procedentes del endocardio del ventrículo izquierdo. La primera muestra se tomó antes de la circulación extracorpórea y la utilizamos como control (valor normal); y las seis restantes a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos de isquemia. Las tres últimas biopsias se tomaron a los 30, 60 y 90 minutos de la reperfusión.

INCLUSION DEL MATERIAL PARA ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL

Se utilizaron 3 c.c. de fijador para cada muestra a una temperatura entre 0 y 4 °C. El fijador se prepara de la siguiente manera: Solución A contiene fosfato monosódico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Solución B, hidróxido sódico (NaOH). Solución C, glucosa. Solución D, se obtiene mezclando 41,5 ml. de Solución A con 8.5 ml. de la Solución B. Esta solución debe alcanzar un pH que oscile entre 6 y 8. Finalmente el fijado se obtiene mezclando 45 ml. de la solución D antes descrita, con 5 ml. de la Solución C y añadiendo 0.5 gr. de Tetroxido de Osmio. El material debe de fijarse en la solución así obtenida durante un tiempo entre 2 y 4 horas. Posteriormente se lava abundantemente con agua destilada durante 15 minutos y finalmente se deshidrata mediante pases sucesivos, en distintas concentraciones de acetona a 30%, 50%,

75%, 90% y 100%, utilizando en cada paso un tiempo entre 15 y 30 minutos. La acetona es desecada con sulfato de cobre anhidro. La mezcla de inclusión se prepara utilizando distintos volúmenes de acetona y de Vestopal-W^R. El material por mezcla de inclusión fresca se introducen en cápsulas y se montan en rejillas de 15 a 17 micras, a las que previamente se ha puesto una película de un material plástico con un espesor de 20 manómetros, finalmente se tiñe con citrato de plomo de Reynolds^R durante 20 minutos.

INCLUSION DEL MATERIAL PARAFINA PARA ESTUDIO EN MICROSCOPIA OPTICA

En primer lugar se fija el material de la biopsia en formol tamponado con acetato sódico durante un tiempo mínimo de 6 horas dependiendo del tamaño de la muestra, la relación fijador/muestra debe ser de 10/1. Posteriormente se procede a la deshidratación de la muestra con porcentajes de alcohol crecientes de 96°, 96°, - 100°-100°, durante 5 horas consecutivas; en las dos horas siguientes se efectúa la deshidratación con xicol. Finalmente durante dos horas se sumergen en Paraplas-Plus^R con el que tras el enfriamiento se confecciona los bloques que posteriormente se cortan en láminas de 6 micras.

Posteriormente se efectúa el proceso de desparafinado y de hidratación con el paso sucesivo, cada 5 minutos, de los cortes del tejido a través de xilol, alcohol a 100°, a 96° y agua destilada.

El microscopio electrónico utilizado fue un modelo EM-300 Philips.

TINCION PARA HEMATOSILINA-EOSINA

Los cortes del tejido se tiñen con Hematosilina de Carazzi durante 10 minutos y se lavan posteriormente con agua del grifo durante 3 minutos. A continuación se efectúa la tinción con cosiana-alcohólica durante algún tiempo de 30 segundos. Finalmente se hidrata y aclara el tejido en pases sucesivos de 2 minutos, utilizando alcohol de 96°, de 100° y xilol para montar el material sobre los portas con DPX^R.

TINCION CON ACIDO PERIODICO DE SCHIFF (PAS)

Después del desparafinado e hidratado se tiñen los cortes con ácido peryódico al 0.5% durante 10 minutos y se lava con agua destilada durante 10 minutos. Posteriormente se añade el reactivo de Schiff (1000 C.Cs. de agua destilada, 5 grs. de fucosina básica, 25 C.Cs. de bisulfito sódico y 5 C.Cs de ácido clorhídrico) durante doce minutos, añadiéndose bisulfito sódico al 2% durante cinco minutos. Finalmente se lava con agua caliente durante 10-15 minutos, y se tiñe con hematosilina de Carazzi, seguidamente se lava en agua del grifo, para acabar deshidratando con una solución alcohólica y montar sobre el porta.

VALORACION ANATOMOPATOLOGICA

La valoración de los resultados fue practicada por 3 anatomopatólogos de diferentes centros hospitalarios. Las muestras fueron estudiadas de forma arbitraria para tratar de evitar que existieran correlaciones.

Se estudiaron los parámetros de la Tabla IV, divididos en tres aspectos: el ultraestructural, observado al microscopia electrónico; los datos obtenidos por microscopia óptica; y los niveles de glucógeno miocárdico mediante tinción con ácido peryodico de Schiff (PAS). Se valoran grados de severidad, siendo 0 el valor control y tomado como valor normal, y el valor ++++ cuando la lesión anatomopatológica era severa-irreversible.



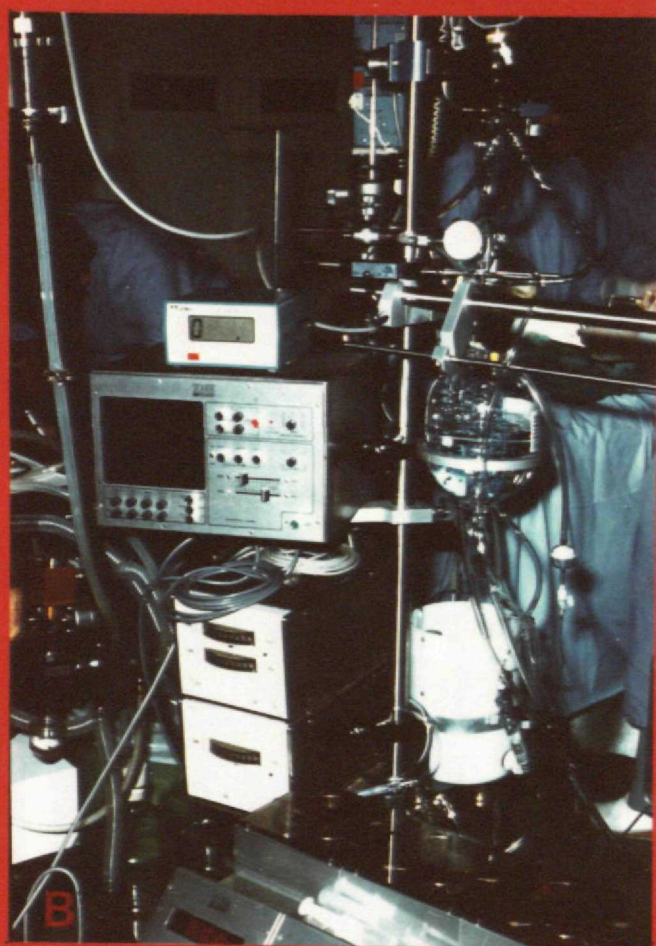


FIG. 3
101

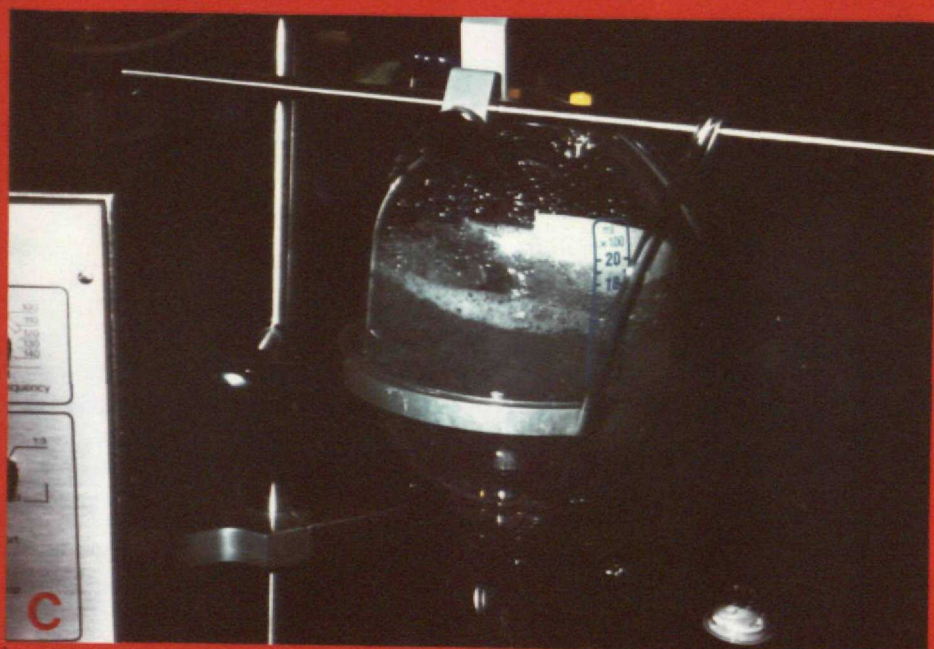
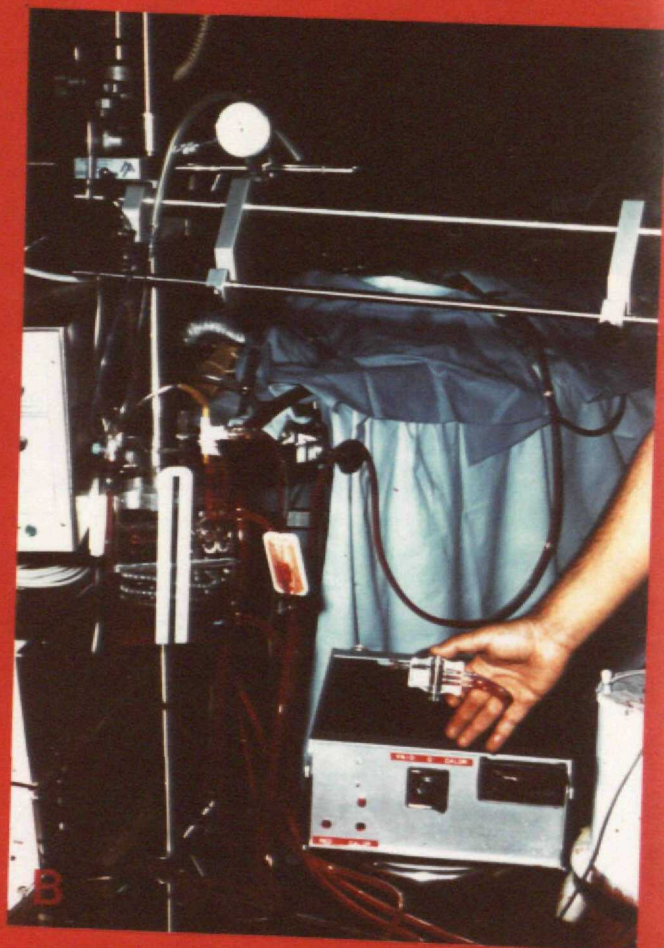


FIG. 4
102

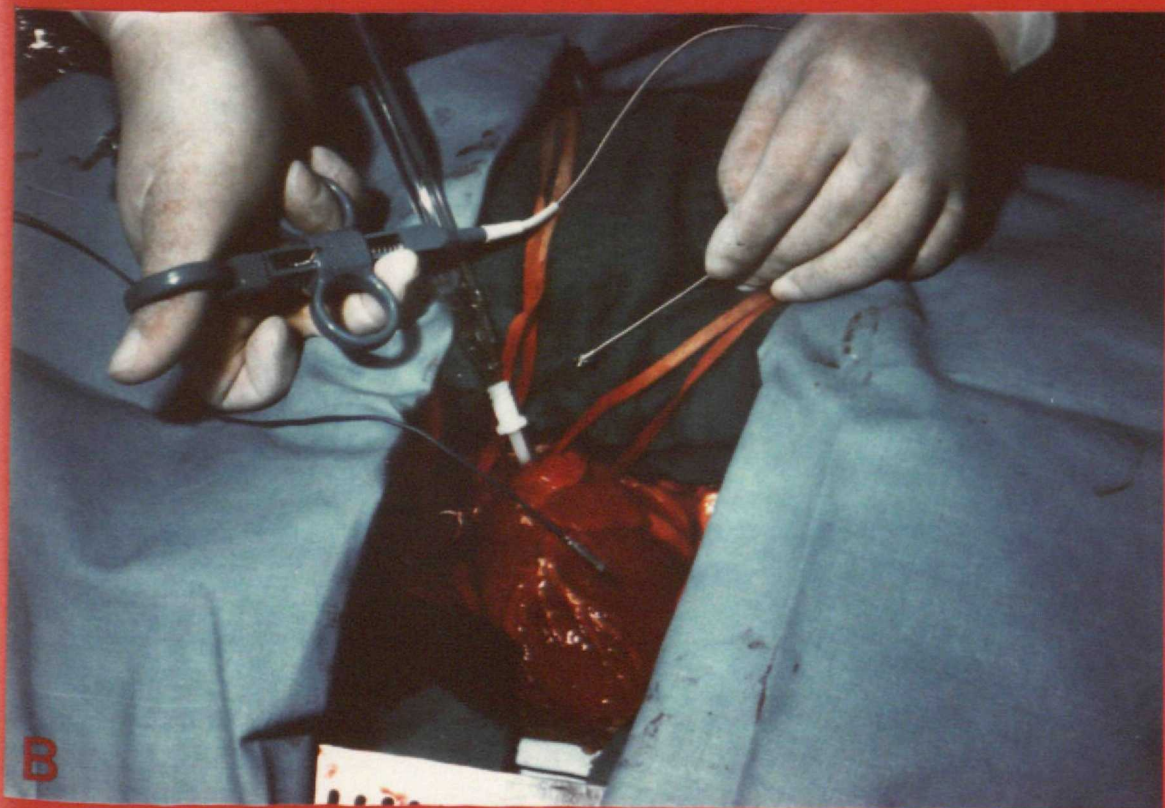
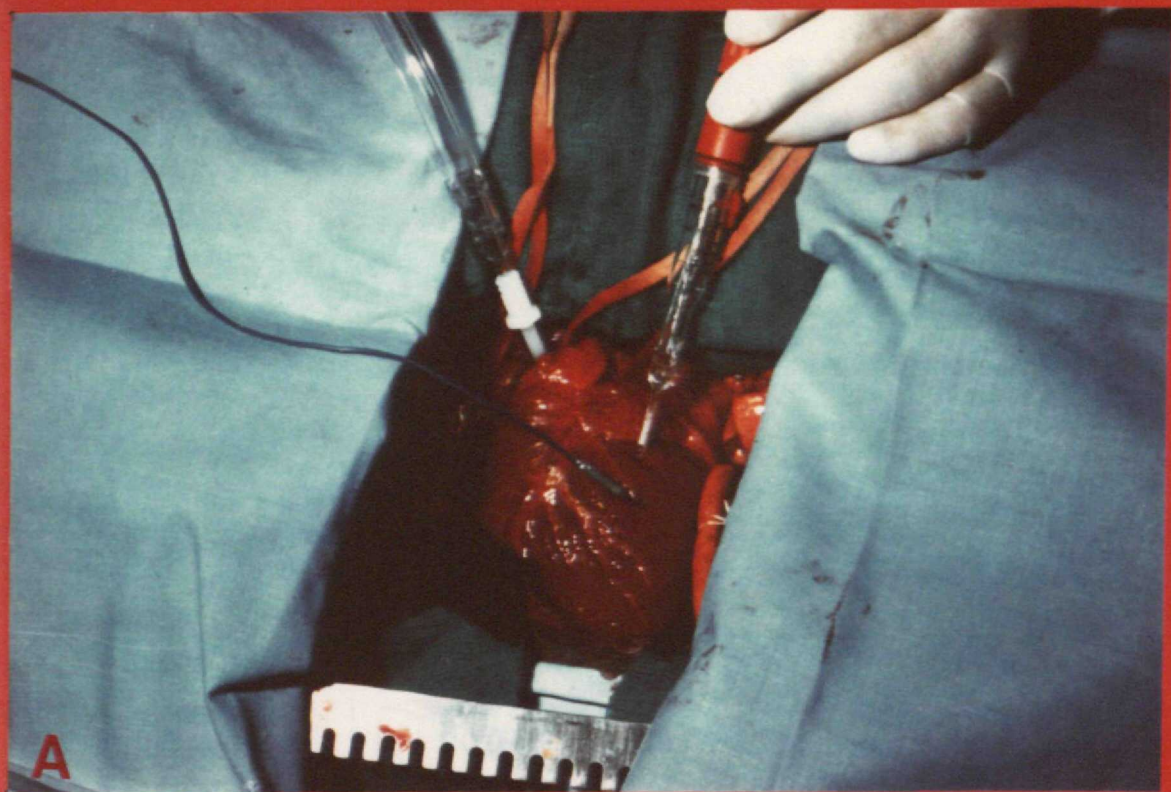


FIG. 5
103

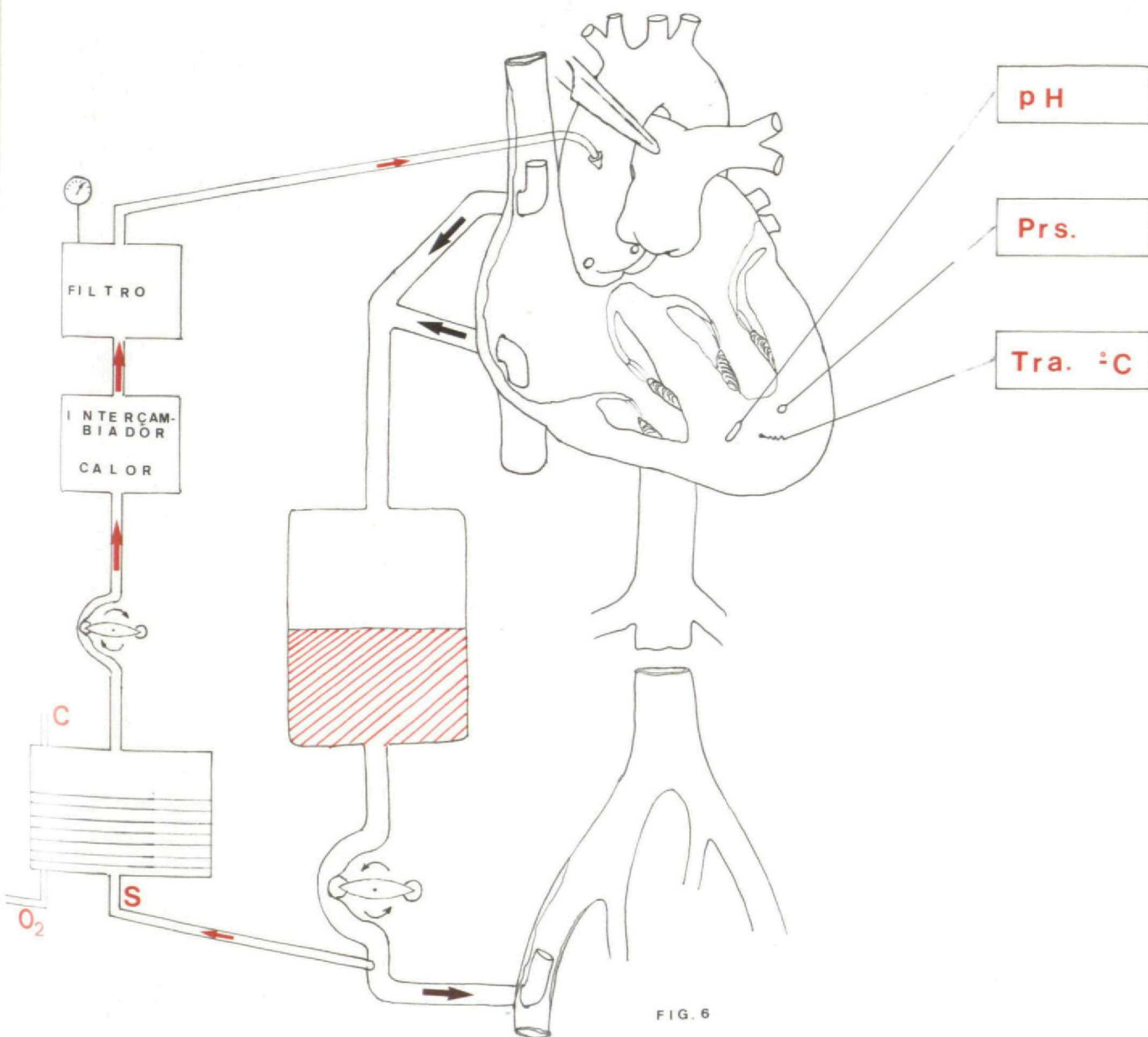


FIG. 6

RESULTADOS

RESULTADOS

ANALISIS ESTADISTICO

Todos los datos se presentan con sus medias y sus desviaciones standard (\pm D.S.). Las desviaciones standard que aparecen en los gráficos no son reales y sólo traducen que los valores se han obtenido de este modo. El valor real aparecen en las tablas correspondientes a estos gráficos.

Las comparaciones de los diferentes puntos respecto a la banda de irreversibilidad celular, fueron realizados con el contraste t de Student. Siempre se valoraron niveles de significación inferiores a 0.05. Los cálculos se realizaron en un ordenador (DIGITAL) MICROVAX-II en el servicio de Estadística de la Clínica Puerta de Hierro.

RESULTADOS BIOQUIMICOS

Los estudios bioquímicos del miocardio (fosfatos de alta energía ATP y CP), se efectuaron mediante la toma de biopsia endomiocárdica del ventrículo izquierdo. Se consideraron valores normales "valores control" las cifras de ATP y CP obtenidas en

las biopsias previas a la circulación extracorpórea. Posteriormente se obtuvieron muestras a los 60, 120 y 180 minutos durante el tiempo que duró la isquemia; y a los 30, 60 y 90 minutos durante el periodo de reperfusión. Tanto los valores absolutos (μmol de ATP/gr de peso húmedo con sus desviaciones standard), así como los relativos (porcentuales con sus desviaciones standard), están expresados en la TABLA I, y la representación gráfica evolutiva en el GRAFICO 1.

Si comparamos el grado de deplección de ATP en relación con el grado anatomopatológico de lesión celular (irreversibilidad), encontramos que ésta aparece cuando los niveles de ATP desciende por debajo del $79\% \pm 7$ de los valores considerados como normales "muestra control".

En la Tabla VI mostramos los niveles de significación estadística de cada solución cardiopléjica a los 60, 120 y 180 minutos de isquemia, haciendo hincapié en que la significación que tiene valor está por encima de la banda de irreversibilidad celular ATP $>$ de $79\% \pm 7$.

Los estudios de C.P. recibieron el mismo tratamiento estadístico que el ATP, comprobándose que la significación estadística desaparecía para la cardioplejia de Bretsneider y la Hipotermia a los 60 minutos de iniciada la isquemia a los 120 para la Cardioplejia de St Thomas y a los 180 para la Cardioplejia oxigenada (TABLA VI).

Comparado el grado de deplección de C.P. en relación con la lesión tisular encontrada (> de 50% de lesiones severas o severas-irreversibles) encontramos que estas se producían cuando los niveles de fosfato de creatinina descendían por debajo de 41 ± 6 (Grafico 2). Los valores (absolutos) μmol de CP/gr de peso húmedo y los porcentuales (relativos), así como sus desviaciones standard están descritos en la TABLA II.

RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS

Los resultados histopatológicos fueron valorados por tres anatomopatólogos de servicios diferentes, no conociéndose entre ellos previamente. Las muestras les fueron entregadas de forma arbitraria para que no pudieran correlacionar datos previos. La valoración de las lesiones se practicó de acuerdo con la TABLA IV, puntuándose de 0 a 4 dependiendo del grado de severidad encontrada. Los elementos ultraestructurales estudiados fueron: mitocondrias, núcleo, edema celular y extracelular, retículo endoplásmico y miofilamentos. Los datos valorados con el microscopio óptico fueron: el grado de eosinofilia citoplásmica, la pignosis nuclear y el contenido de glucógeno con la técnica de PAS.

Las muestras más significativas estudiadas, tanto de Microscopio Electrónico, como en el óptico y el glucógeno durante el periodo de isquemia (30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos) así

como durante la reperfusión (30, 60 y 90 minutos) para cada grupo de solución cardiopléjica utilizada, está en las Figuras 7 - 24. El grado de lesión celular lo expresamos de forma porcentual del total de los campos estudiados en cada biopsia. GRAFICO 10.

El grado de evolución de la lesión, tanto durante el periodo de isquemia como durante la reperfusión para las diferentes soluciones cardiopléjicas estudiadas, está representado en los gráficos 9 y 11 respectivamente.

ESTUDIO DEL RECALENTAMIENTO MIOCARDICO

El recalentamiento miocárdico observado en el ventrículo izquierdo, ventrículo derecho y septo interventricular durante el periodo de isquemia, están expresados en los gráficos 3, 4 y 5.

Las curvas de recalentamiento de las diferentes áreas miocárdicas analizadas, siguen una distribución exponencial de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$T(t) = T_v (T_v - T_o) e^{-Kt}$$

Siendo: $T(t)$ = Temperatura en un tiempo determinado.

T_v = Temperatura venosa a la que tiende el miocardio durante el recalentamiento.

T_o = Temperatura Postcardioplejia (Temperatura inicial).

e = $2.7/82818$. Base de los logaritmos neperianos.

K = Constante de recalentamiento. Traducen la velocidad con que se recalientan las distintas áreas miocárdicas.

Ordenados de mayor a menor los valores de K fueron los siguientes: Septo interventricular (proximal), Ventrículo izquierdo (proximal), Ventrículo izquierdo (distal), Septo (distal), Ventrículo derecho (proximal), Ventrículo izquierdo (medio), Ventrículo derecho (medio) y Ventrículo izquierdo (distal). De esto se deduce que el Septo interventricular son las zonas que más velozmente se recalientan y por consiguiente es la zona peor protegida durante la isquemia.

ESTUDIO DEL pH MIOCARDICO

Los datos obtenidos durante la monitorización del pH están representados en el GRAFICO 6. Se midieron 5 valores en los tiempos de isquemia señalados (30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos) y se calculó la media aritmética en la desviación standard TABLA III. Cuando comparamos los valores del pH en relación con el grado anatomopatológico de lesión miocárdica encontrada (considerando como irreversibilidad celular valores superiores al 50% de lesión severa o severa-irreversible), encontramos que ésta se producía cuando el pH descendía por debajo de valores de 5.8-6. La significación estadística para este hecho viene expresado en la TABLA VII.

Los datos del pH monitorizados y que están expresados en el gráfico 6, los trasparamos a una gráfica semilogarítmica (GRAFICO 7) para averiguar la pendiente en la curva, y pudimos comprobar que cuando la recta del pH es una sólo línea (no tiene dos tendencias) y tiene poca pendiente, los efectos protectivos sobre el miocardio son mayores que cuando existen dos tendencias lineales y existe mayor pendiente.

El electrodo del peachímetro se colocó en el espesor de la cara anterior del ventrículo izquierdo.

RESULTADOS MANOMETRICOS DE LA CONTRACTURA MIOCARDICA

Los valores manométricos obtenidos cuando monitorizamos el grado de contractura miocárdica están representados en el GRAFICO 8. Siempre se tomaron 6 medidas en los tiempos señalados. Consideramos como valor 0 la presión intramiocárdica en mm de Hg correspondiente al estado del miocardio en el minuto cero de isquemia después de infundida la dosis inicial de cardioplejia; y es el valor 100 a la presión en mm Hg correspondiente al minuto 180 de isquemia en el grupo que sólo se practicó la hipotermia. Cuando el grado de contractura encontrado fue superior al 35 ± 6 , encontramos que el porcentaje anatomopatológico de lesiones calificadas de severas o severas-irreversibles era superior al 50%.

El nivel de significación estadística del grado de contractura miocárdica en relación a la banda de 35 ± 6 (irreversibilidad miocárdica) viene expresado en la TABLA VIII.

RESULTADOS DEL GASTO CARDIACO POST-REPERFUSION

los resultados evolutivos del gasto cardiaco post-reperfusión se encuentran reseñados en el GRAFICO 12, y los valores porcentuales con la desviación standard aparecen en la TABLA V.

La "banda" de lesión severa irreversible la encontramos cuando el gasto cardiaco post-reperfusión no alcanzaba el 46 ± 4.5 del inicialmente considerado como basal (gasto cardiaco medio en el perro anestesiado y el tórax abierto antes de iniciarse las maniobras para colocar el animal en circulación extracorpórea).

Los niveles de significación estadística correlacionando el gasto cardiaco con la lesión celular, se encuentran en la TABLA IX.

μMOL DE ATP/gr DE PESO HUMEDO

% DEL TOTAL DE ATP TOMANDO COMO 100% EL CONTROL

	TIEMPO DE ISQUEMIA (min)				TIEMPO DE REPERFUSION (min)		
	CONTROL	60	120	180	30	60	90
Cardioplegia Sanguinea	4.45±0.17 103.48%±3.9	4.51±0.13 104.88%±3.0	4.58±0.10 106.51%±2.3	4.68±0.15 108.83%±3.5	3.58±0.09 83.25% ±2.1	3.32±0.14 74.41% ±3.1	3.46±0.13 80.46% ±3.0
Cardioplegia Oxigenada	4.30±0.18 100% ±4.2	4.25±0.19 98.83% ±4.4	4.02±0.23 93.48% ±5.3	3.63±0.16 84% ± 3.7	3.45±0.18 80.23% ±4.2	3.17±0.13 73.72% ±3.0	3.39±0.09 78.83% ±2.1
Cardioplegia C.P.H.	4.36±0.16 101.39%±3.7	4.01±0.13 93.25% ±3.0	3.82±0.26 88.83% ±6.0	3.79±0.24 88.14% ±5.6	2.87±0.12 66.74% ±2.8	3.10±0.19 72.09% ±4.4	3.14±0.11 73.02% ±2.5
Cardioplegia St Thomas	4.25±0.09 98.8% ± 2.1	3.91±0.13 90.93% ±3.0	3.46±0.24 80.46% ±5.6	3.16±0.19 73.48% ±4.4	2.46±0.16 57.20% ±3.7	2.98±0.13 69.30% ±3.1	3.03±0.12 70.46% ±2.8
Cardioplegia Bretschneider	4.29±0.11 99.76% ±2.5	3.74±0.12 86.97% ±2.8	3.16±0.08 73.48% ±1.8	3.02±0.23 70.23% ±5.3	2.21±0.14 51.39% ±3.2	2.46±0.09 57.20% ±2.1	2.93±0.09 68.13% ±1.2
Hipotermia	4.13±0.11 96.04% ±2.5	3.06±0.12 71.15% ±2.8	2.89±0.09 67.20% ±2.1	2.42±0.03 56.27% ±0.7	2.46±0.07 57.20% ±1.6	2.30±0.11 53.48% ±2.6	2.36±0.16 54.88% ±3.7

TABLA I

μMOL DE CP/gr DE PESO HUMEDO

% DEL TOTAL DE CP TOMANDO COMO 100% EL CONTROL

	TIEMPO DE ISQUEMIA (min)				TIEMPO DE REPERFUSION (min)		
	CONTROL	60	120	180	30	60	90
Cardioplegia Sanguinea	7.21±0.76 99.31%±10.4	6.37±0.35 87.74% ±4.8	5.92±0.46 81.54% ±6.3	4.77±0.50 65.70% ±6.8	8.54±0.39 117.63%±5.4	8.26±0.49 113.77%±6.7	8.01±0.36 110% ±4.9
Cardioplegia Oxigenada	7.31±0.37 100.68%±5.0	5.87±0.46 80.85% ±6.3	4.90±0.56 67.49% ±7.7	2.91±0.27 40.08% ±3.7	7.69±0.47 105.92%±6.5	7.40±0.61 101.92%±8.4	7.40±0.46 101.92%±6.3
Cardioplegia C.P.H.	7.23±0.46 99.58% ±6.3	4.99±0.35 68.73% ±4.8	3.77±0.18 51.92% ±2.2	3.47±0.22 47.79% ±3.0	5.81±0.46 80.02% ±6.3	6.65±0.34 91.59% ±4.7	6.95±0.32 95.73% ±4.4
Cardioplegia St Thomas	7.26±0.52 100% ±7.2	3.64±0.42 50.13% ±5.7	3.20±0.34 44.07% ±4.7	2.76±0.46 38.01% ±6.3	5.22±0.39 71.90% ±5.4	6.63±0.42 77.54% ±4.9	6.34±0.42 87.32% ±5.8
Cardioplegia Bretschneider	7.30±0.61 100.55%±8.4	2.96±0.59 40.77% ±8.1	1.74±0.71 23.96% ±9.7	1.52±0.61 20.93% ±8.3	4.96±0.54 68.32% ±7.3	5.31±0.30 73.14% ±4.1	5.96±0.36 82.09% ±4.9
Hipotermia	7.24±0.36 99.72% ±4.9	2.35±0.61 32.36% ±8.4	1.52±0.29 20.09% ±3.8	1.20±0.57 16.52% ±7.8	4.01±0.61 55.23% ±8.4	4.96±0.60 64.60% ±7.8	4.82±0.29 66.39% ±4.1

TABLA II

E V O L U C I O N D E L p H

	TIEMPO DE ISQUEMIA (minutos)						
	<u>CONTROL</u>	<u>30</u>	<u>60</u>	<u>90</u>	<u>120</u>	<u>150</u>	<u>180</u>
Cardioplegia Sanguinea	7.12±0.09	6.91±0.05	6.75±0.06	6.62±0.04	6.50±0.06	6.45±0.08	6.41±0.09
Cardioplegia Oxigenada	7.12±0.09	6.80±0.07	6.62±0.07	6.48±0.06	6.40±0.07	6.31±0.09	6.23±0.06
Cardioplegia C.P.H.	7.12±0.09	6.75±0.06	6.53±0.09	6.41±0.07	6.33±0.08	6.19±0.08	6.11±0.05
Cardioplegia St Thomas	7.12±0.09	6.65±0.03	6.32±0.08	6.10±0.05	5.91±0.1	5.79±0.07	5.72±0.07
Cardioplegia Bretschneider	7.12±0.09	6.40±0.08	5.97±0.04	5.79±0.08	5.71±0.09	5.71±0.09	5.63±0.09
Hipotermia	7.12±0.09	6.12±0.08	5.79±0.09	5.60±0.1	5.53±0.12	5.43±0.11	5.42±0.08

TABLA III

VALORACION DE LA LESION ISQUEMICA MIOCARDICA

			Normal	Leve	Moderada	Severa	Severa Irreversible
Microscopia Electrónica	<u>MITOCONDRIAS</u>	CRESTAS	0	+	++	+++	++++
Estudio Ultraestructural		MATRIZ MITOCONDRIAL	0	+	++	+++	++++
	<u>NUCLEO</u>	CLARO-PICNOTICO	0	+	++	+++	++++
	<u>EDEMA</u>	EXTRACELULAR	0	+	++	+++	++++
		INTRACELULAR	0	+	++	+++	++++
	<u>RETICULO ENDOPLASMICO</u>	(Dilatación)	0	+		++	+++++
	<u>MIOFILAMENTOS</u>	(Contractura-Relajación C.R.)		C	C	C	R R
MICROSCOPIO DE LUZ	<u>CITOPLASMA</u>	(Eosinofilia)	0	+		++	+++++
	<u>NUCLEO</u>	(Pícnosis)	0	+		++	+++++
	<u>GLUCOGENO</u>	(PAS)	0	+		++	+++++

TABLA IV

GASTO CARDIACO REPERFUSION

	<u>CONTROL</u> Previo a C.E.C.	<u>30 minutos</u>	<u>60 minutos</u>	<u>90 minutos</u>
Cardioplegia Sanguinea	2.40 ± 0.13 97.95% ±5.3	2.04 ± 0.15 83.40% ±6.1	2.27 ± 0.04 92.60% ±1.6	2.37 ± 0.16 96.75% ±6.5
Cardioplegia Oxigenada	2.56 ± 0.09 104.48%±3.7	1.71 ± 0.26 70.00%±10.6	2.07 ± 0.16 84.63% ±6.5	2.26 ± 0.22 92.45% ±8.9
Cardioplegia C.P.H.	2.39 ± 0.17 97.55% ±6.9	1.46 ± 0.29 59.75%±11.8	1.95 ± 0.19 79.84% ±7.7	1.93 ± 0.31 78.67% ±5.3
Cardioplegia St. Thomas	2.46 ± 0.14 100.41%±5.7	0.71 ± 0.31 28.93%±12.6	0.98 ± 0.23 40.36% ±9.4	1.31 ± 0.35 53.47%±14.3
Cardioplegia Brestschneider	2.54 ± 0.08 103.67%±3.2	0.58 ± 0.29 23.62%±11.8	0.82 ± 0.29 33.46%±11.8	1.17 ± 0.29 47.75%±11.8
Hipotermia	2.39 ± 0.13 97.55% ±5.3	0.23 ± 0.15 9.11% ± 5.9	0.39 ± 0.17 16.20% ±7.0	0.82 ± 0.14 33.42% ±5.7

TABLA V

**NIVELES DE SIGNIFICACION ESTADISTICA DEL ATP Y CP
EN RELACION A LA IRREVERSIBILIDAD CELULAR**

		TIEMPO DE ISQUEMIA (minutos)		
		60	120	180
Cardioplegia Sanguinea	A T P	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001
	C P	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001
Cardioplegia Oxigenada	A T P	P < 0.002	P < 0.01	N. S.
	C P	P < 0.001	P < 0.001	N. S.
Cardioplegia C.P.H.	A T P	P < 0.01	P = 0.02	P < 0.03
	C P	P < 0.001	P < 0.001	P = 0.003
Cardioplegia St. Thomas	A T P	P < 0.01	N. S.	N. S.
	C P	P = 0.02	N. S.	N. S.
Cardioplegia Brestschneider	A T P	P = 0.03	N. S.	P = 0.003
	C P	N. S.	P < 0.01	P < 0.001
Hipotermia	A T P	P = 0.003	P < 0.002	P < 0.002
	C P	N. S.	P < 0.001	P < 0.001

TABLA VI

**NIVELES DE SIGNIFICACION ESTADISTICA DEL pH
EN RELACION A LA IRREVERSIBILIDAD CELULAR**

	TIEMPO DE ISQUEMIA (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
Cardioplegia Sanguinea	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia Oxigenada	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia C.P.H.	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia St Thomas	P<0.001	P<0.001	P<0.001	N.S.	N.S.	P<0.01
Cardioplegia Bretschneider	P<0.001	N.S.	N.S.	P<0.01	P<0.01	P<0.01
Hipotermia	P<0.01	N.S.	P<0.01	P<0.01	P<0.001	P<0.001

TABLA VII

NIVELES DE SIGNIFICACION ESTADISTICA DEL GRADO DE CONTRACTURA MIOCARDICA EN RELACION A LA IRREVERSIBILIDAD CELULAR

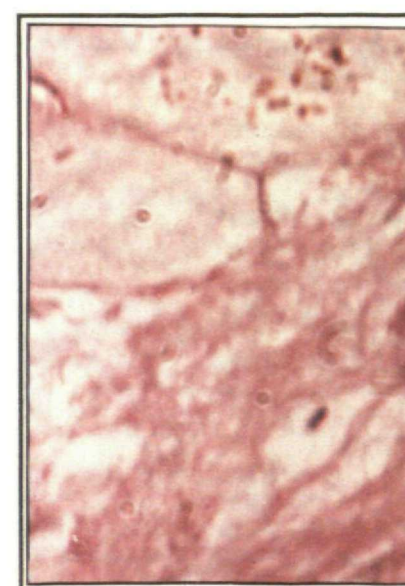
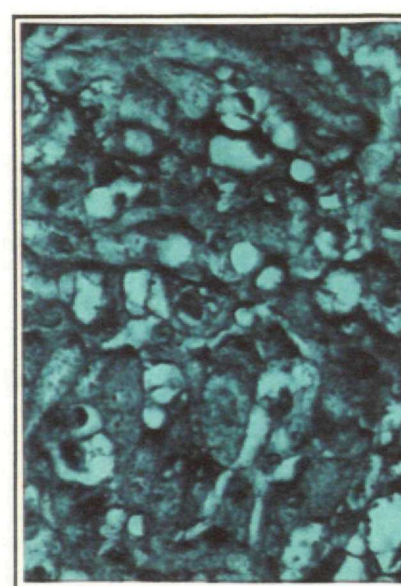
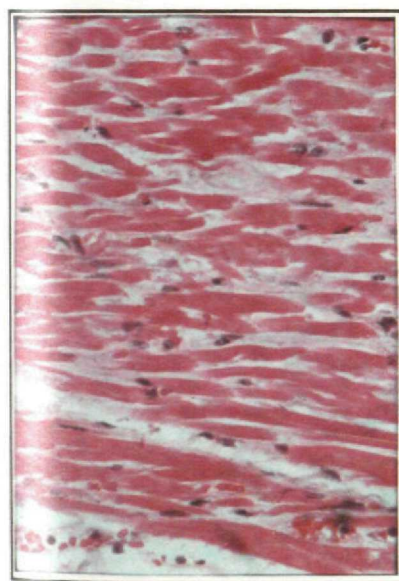
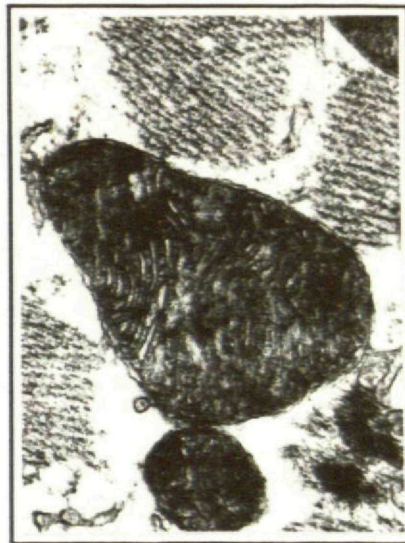
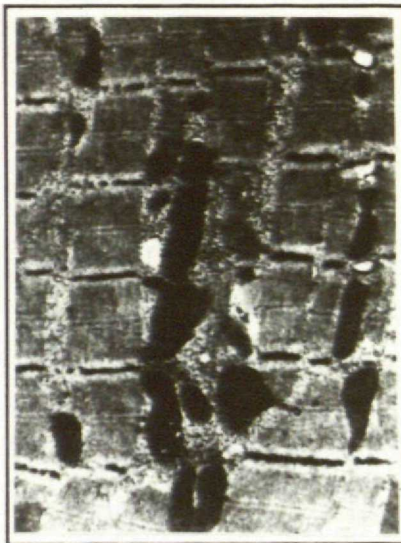
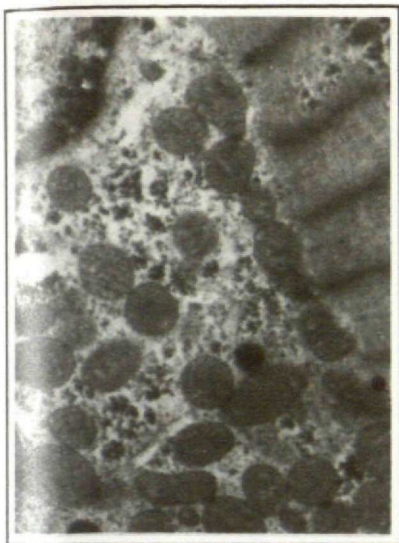
	TIEMPO DE ISQUEMIA (minutos)					
	30	60	90	120	150	180
Cardioplegia Sanguinea	---	---	---	---	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia Oxigenada	---	---	---	---	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia C.P.H.	---	---	---	---	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia St Thomas	---	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Cardioplegia Bretschneider	---	P<0.001	P<0.001	P=0.03	P<0.001	P<0.001
Hipotermia	---	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

TABLA VIII

**NIVELES DE SIGNIFICACION ESTADISTICA DEL GASTO CARDIACO
POSTOPERATORIO EN RELACION A LA IRREVERSIBILIDAD CELULAR**

	TIEMPO DE ISQUEMIA (minutos)		
	30	60	90
Cardioplegia Sanguinea	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001
Cardioplegia Oxigenada	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001
Cardioplegia C.P.H.	P = 0.02	P < 0.001	P < 0.001
Cardioplegia St. Thomas	P = 0.01	N. S.	N. S.
Cardioplegia Brestschneider	P < 0.001	P = 0.03	P < 0.001
Hipotermia	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001

TABLA IX



30

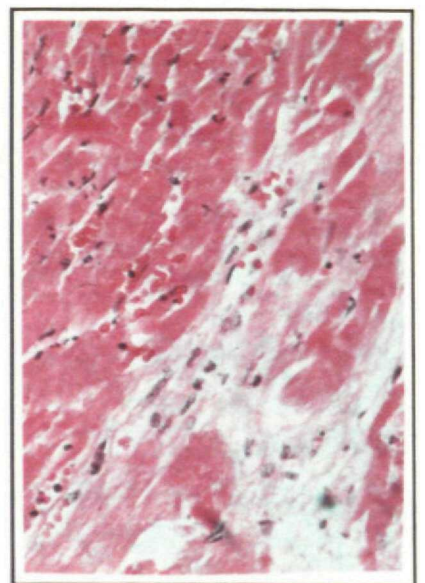
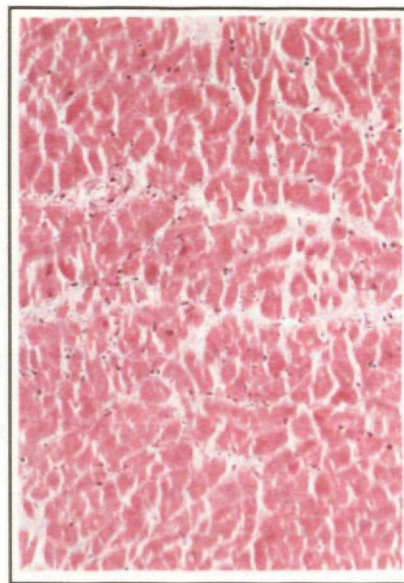
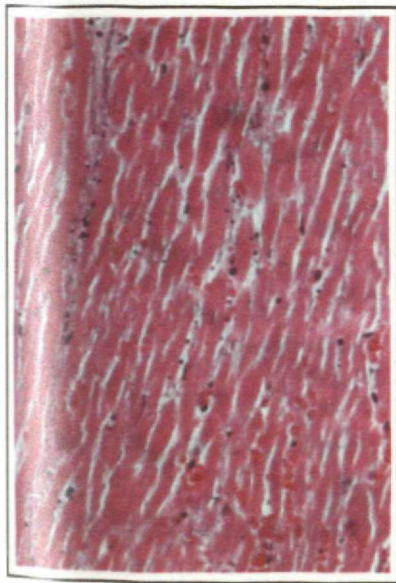
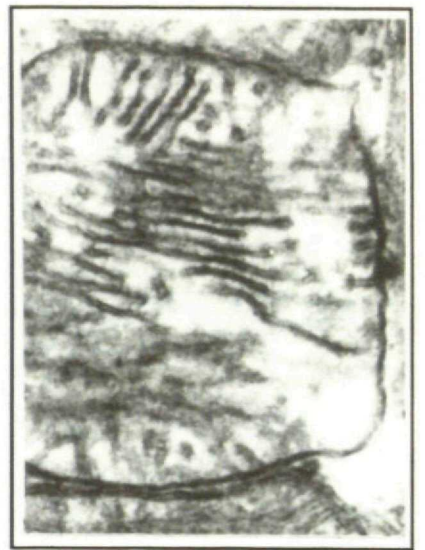
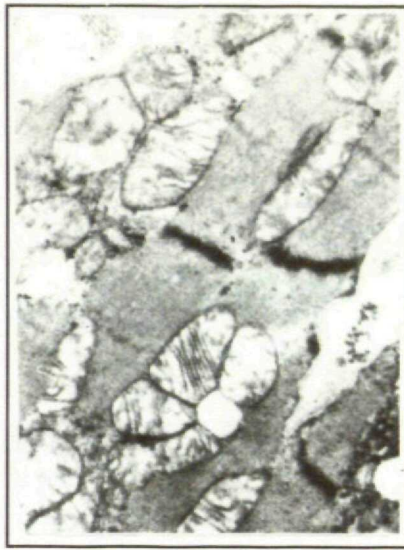
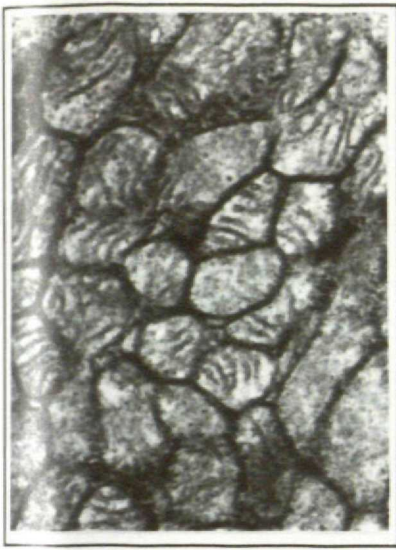
60

90

ISQUEMIA

FIG. 7
121

HIPOTERMIA



120



150



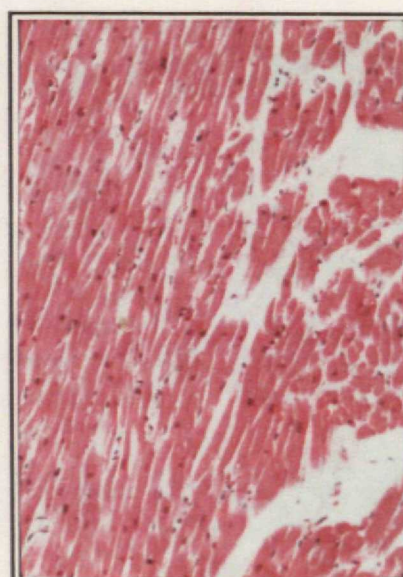
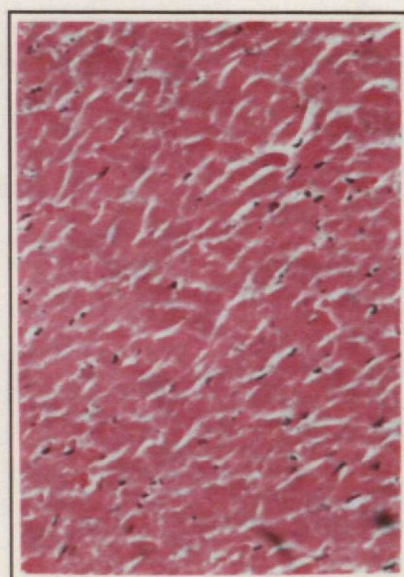
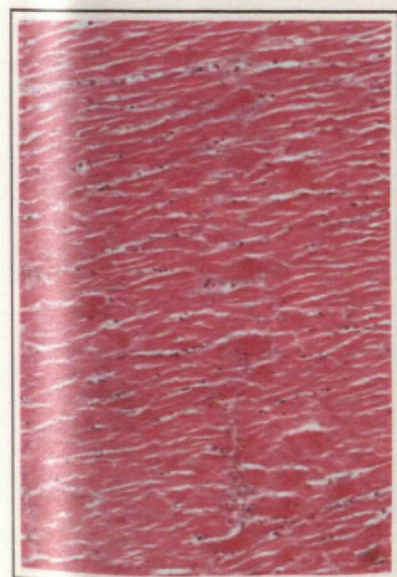
180

ISQUEMIA

FIG. 8

122

HIPOTERMIA



30

60

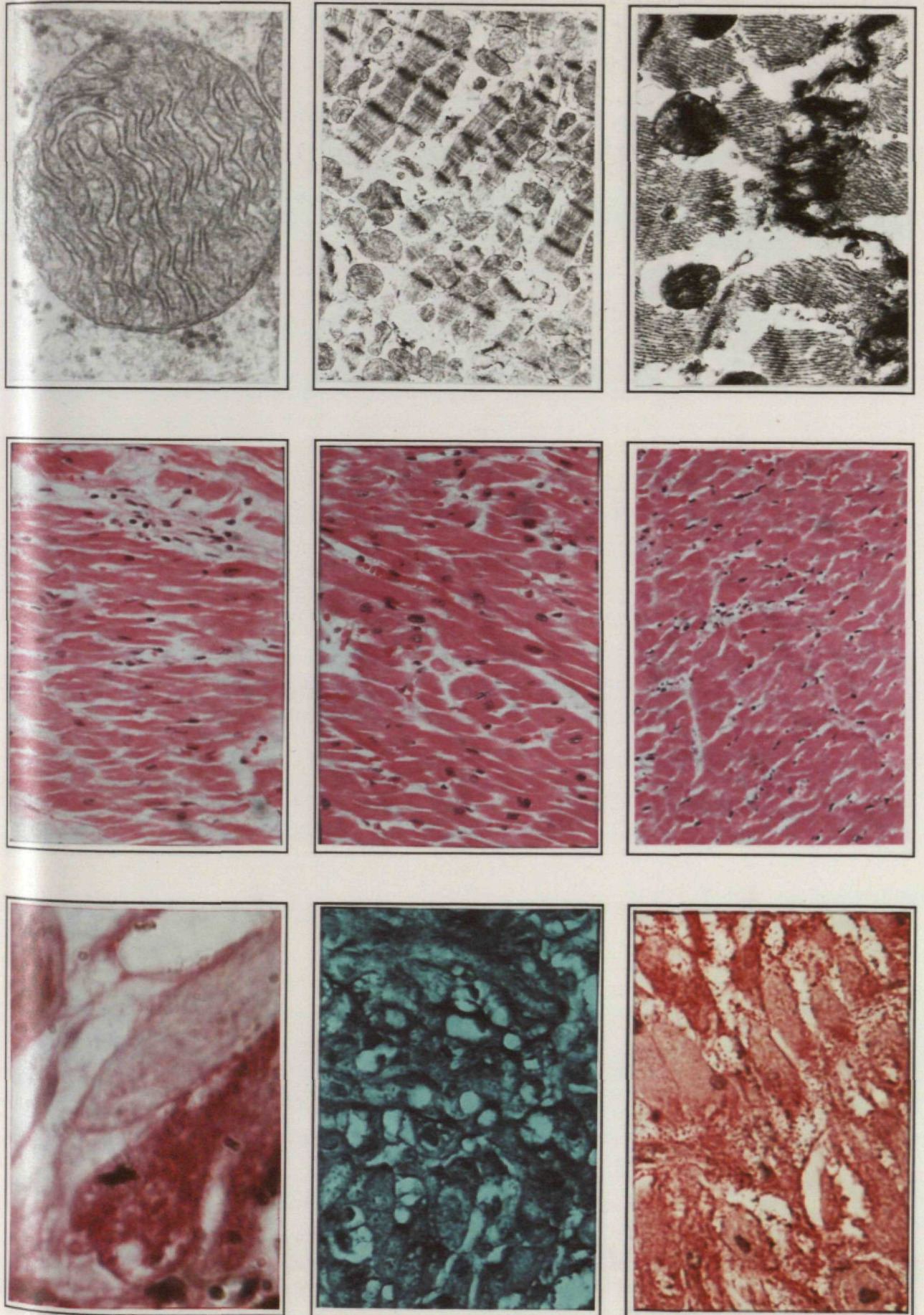
90

REPERFUSION

FIG. 9

1 2 3

ISQUEMIA



30

60

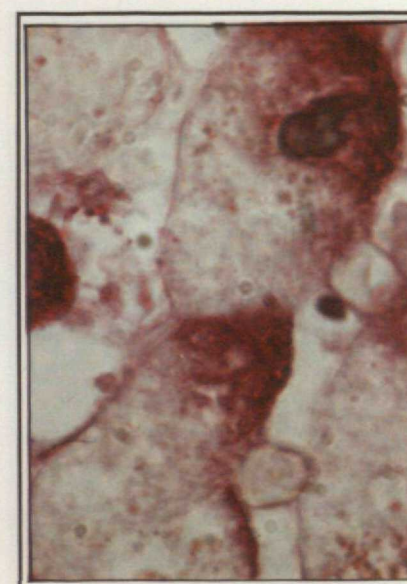
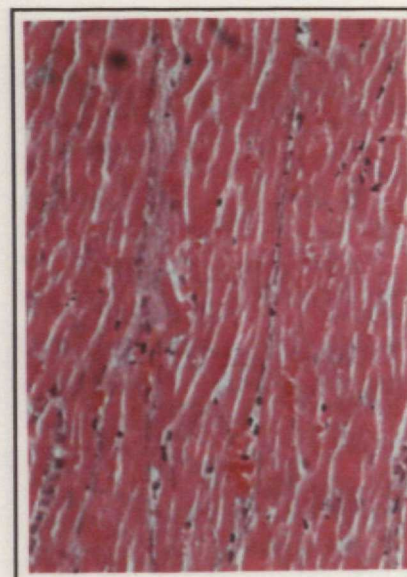
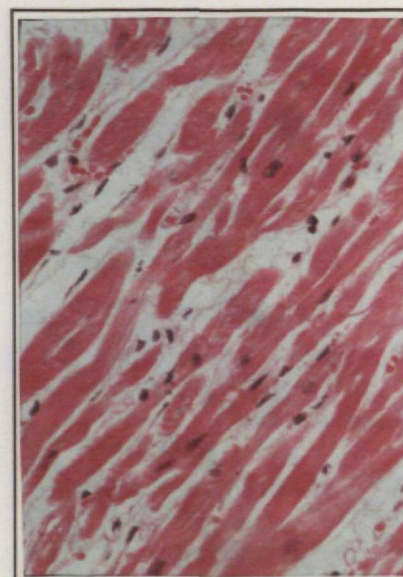
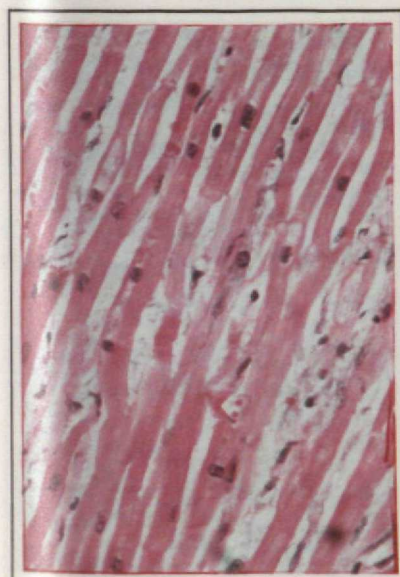
90

CARDIOPLEGIA Bretschneider

FIG. 10

124

ISQUEMIA



120

150

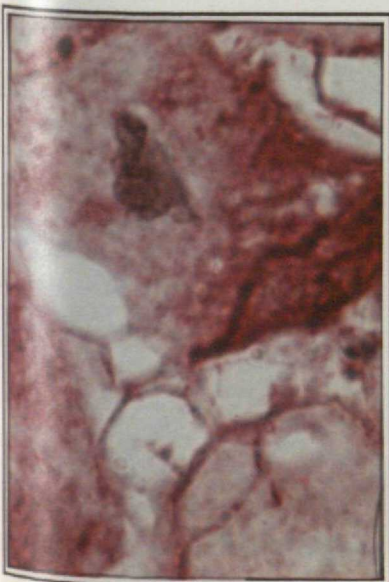
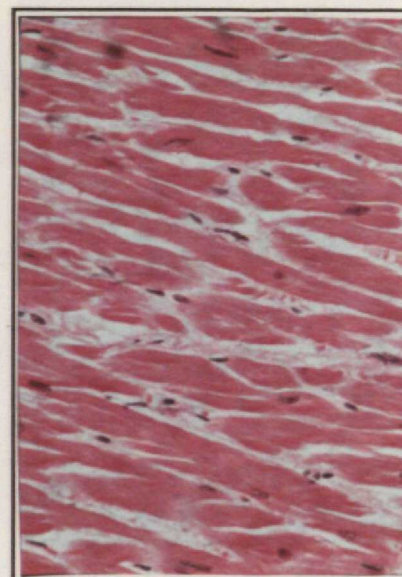
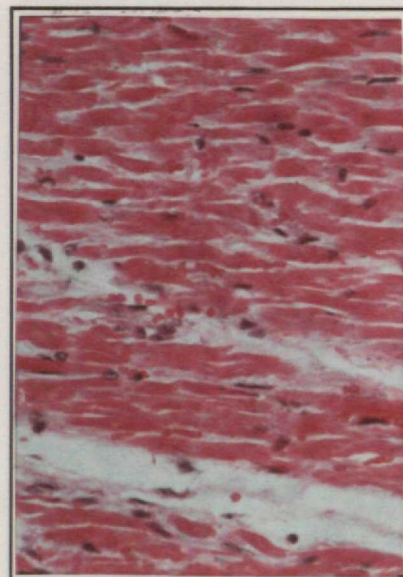
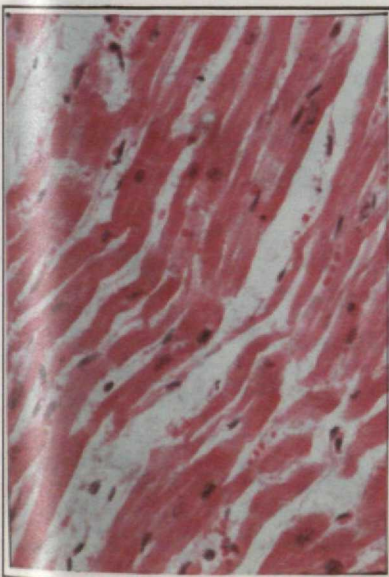
180

CARDIOPLEGIA Bretschneider

FIG. 11

125

REPERFUSION



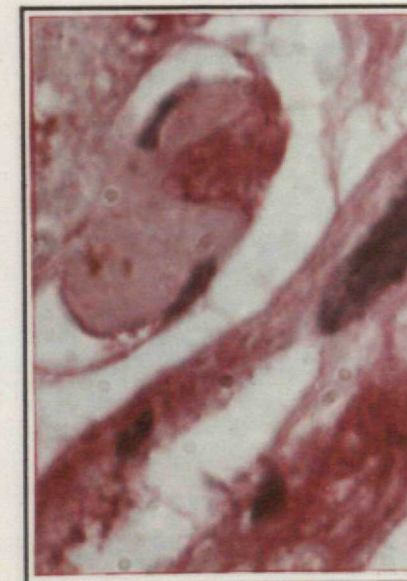
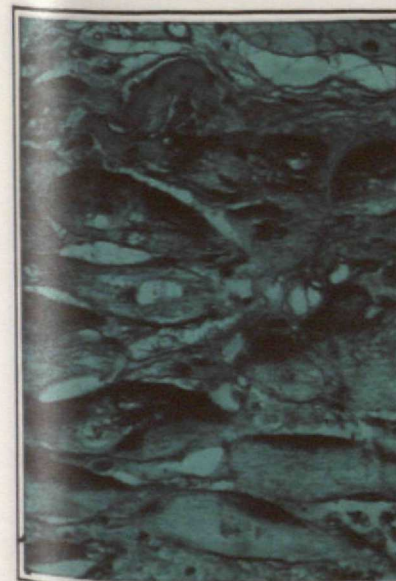
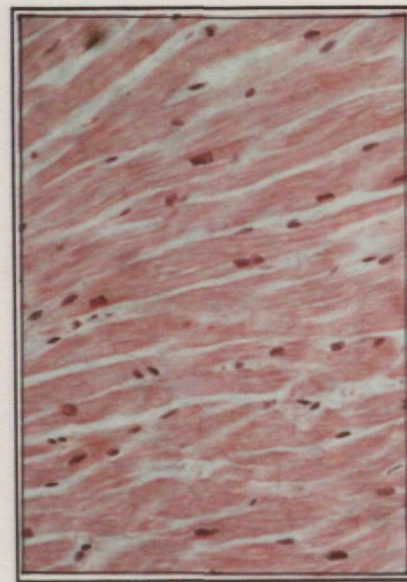
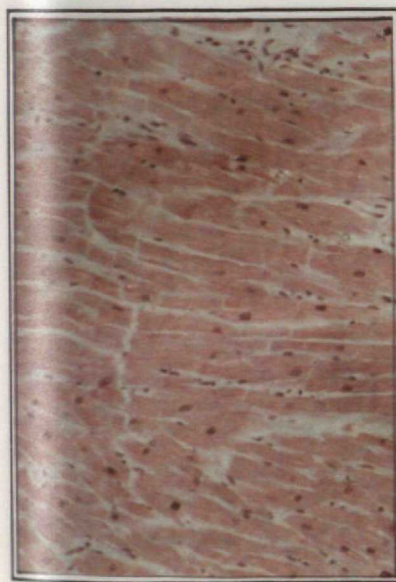
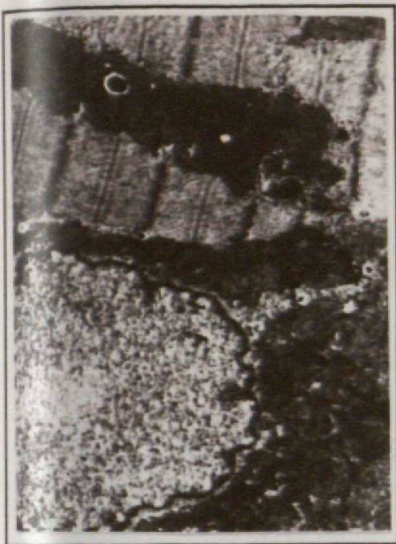
30

60

90

CARDIOPLEGIA Bretschneider

FIG 12
126



30

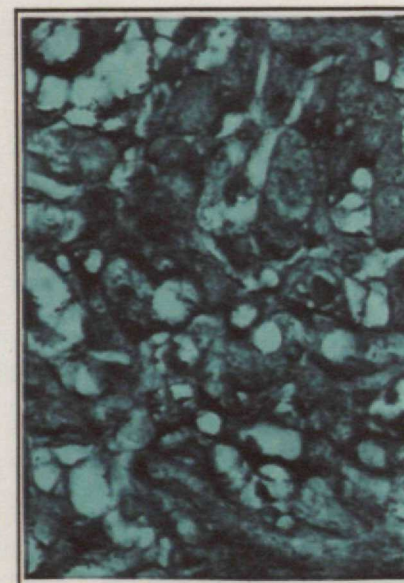
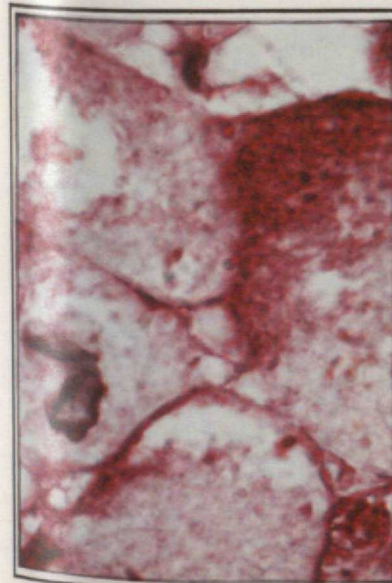
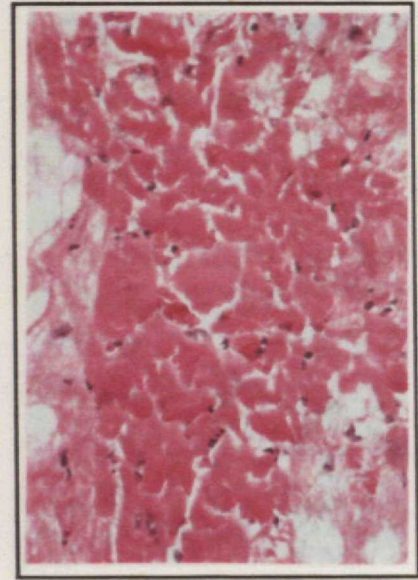
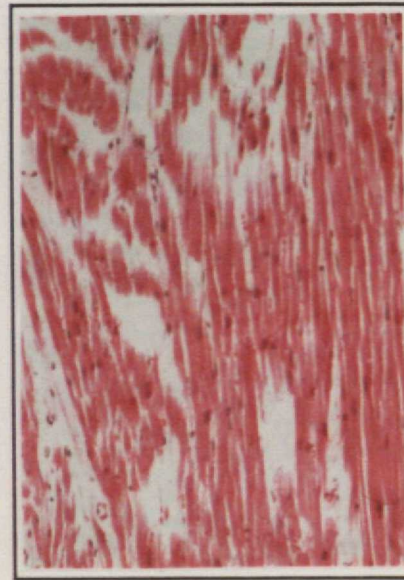
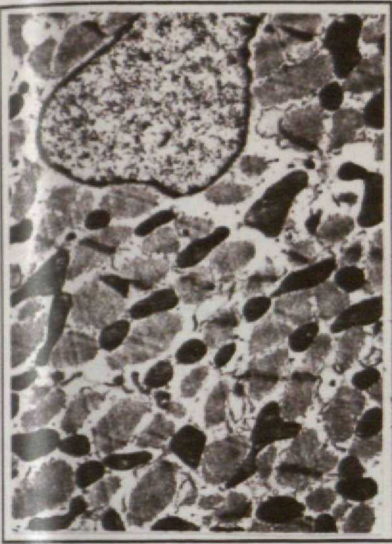
60

90

CARDIOPLEGIA St. Thomas

FIG. 13

127



120

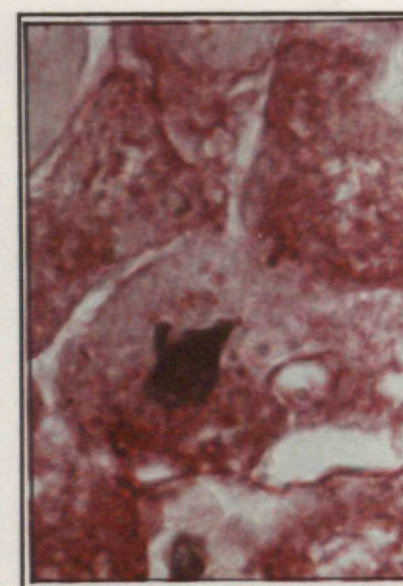
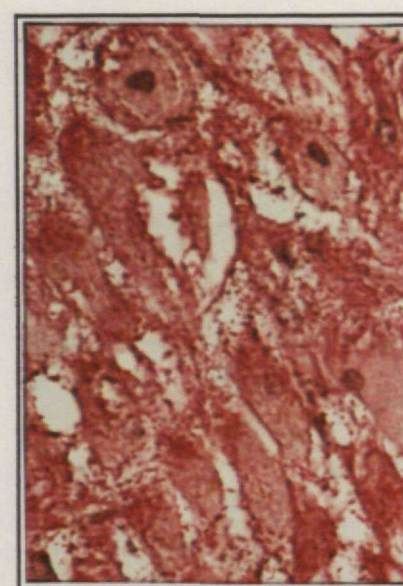
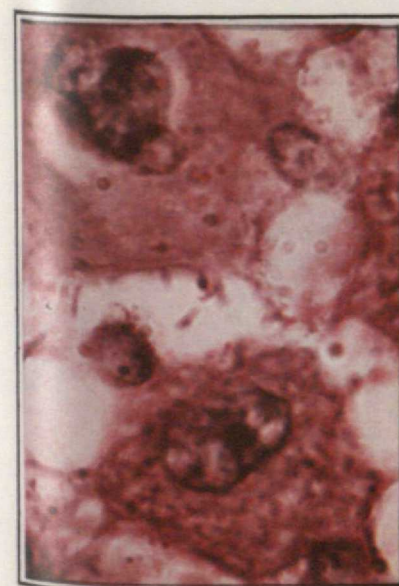
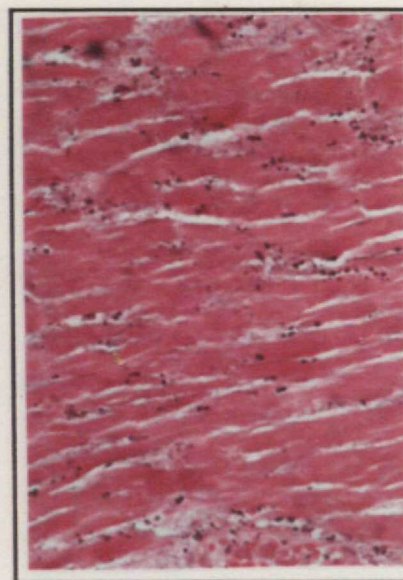
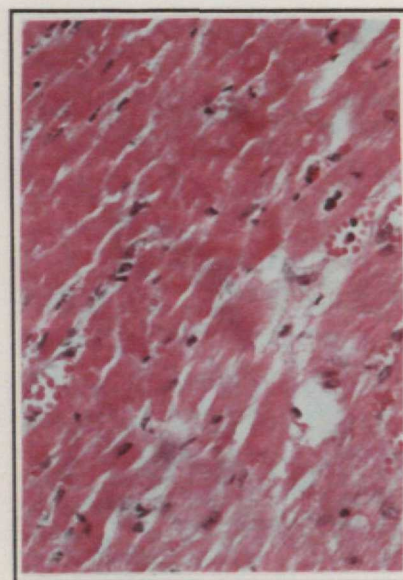
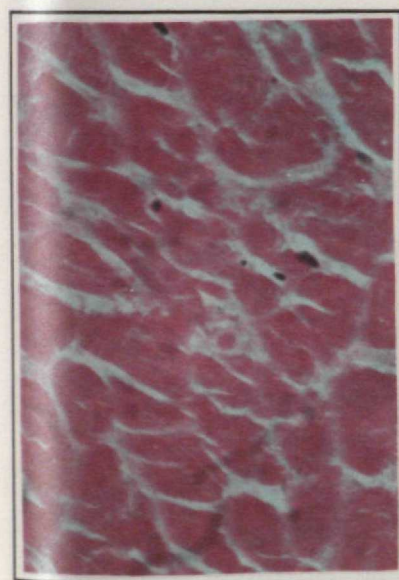
150

180

CARDIOPLEGIA St. Thomas

FIG. 14

128



30

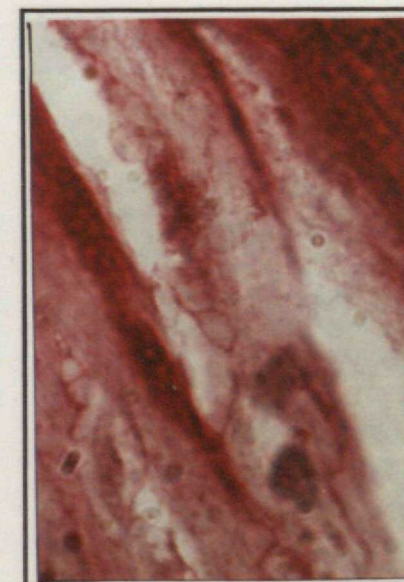
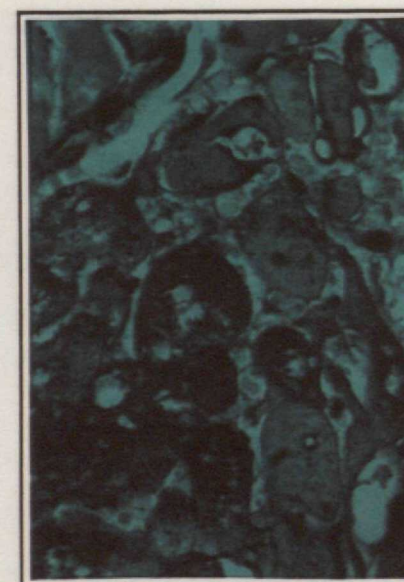
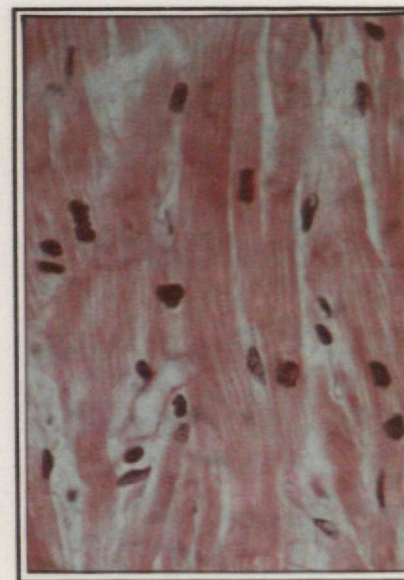
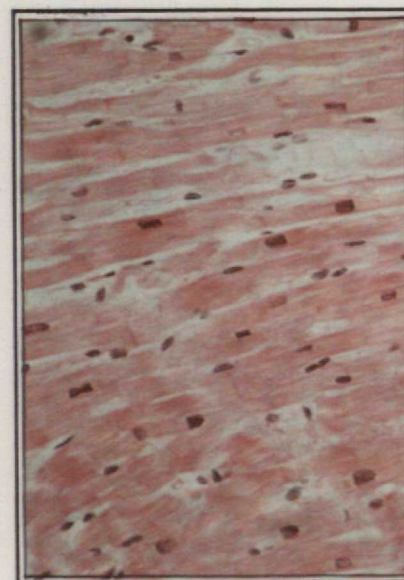
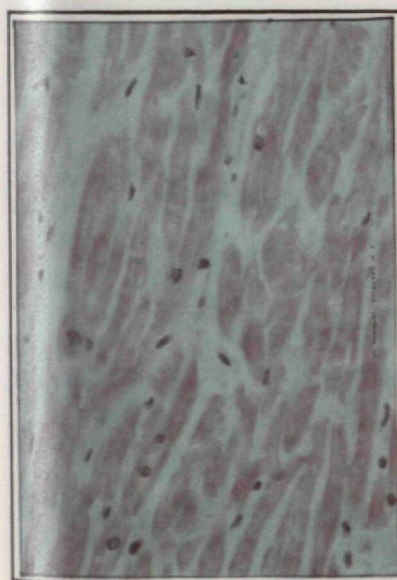
60

90

CARDIOPLEGIA St. Thomas

FIG. 15

129



30

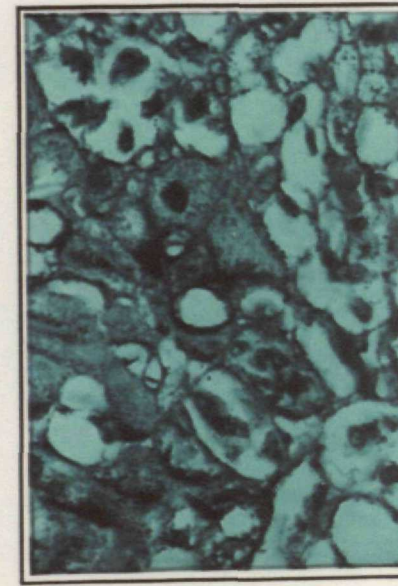
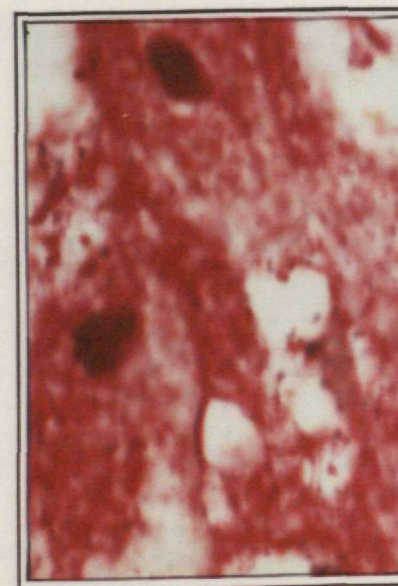
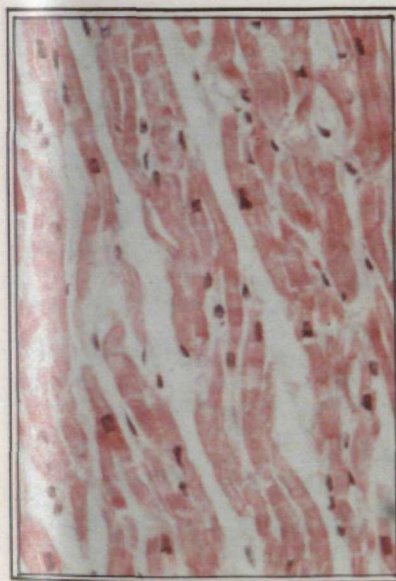
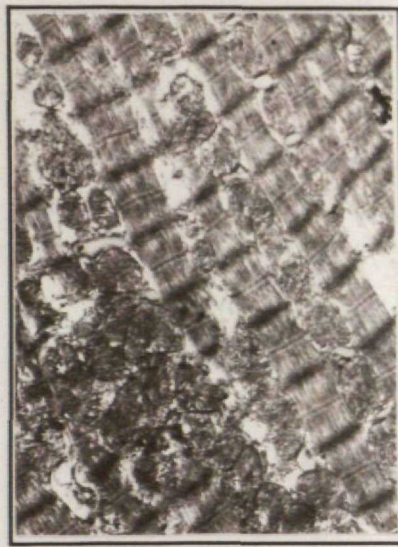
60

90

CARDIOPLEGIA C.P.H.

FIG. 16

130



120

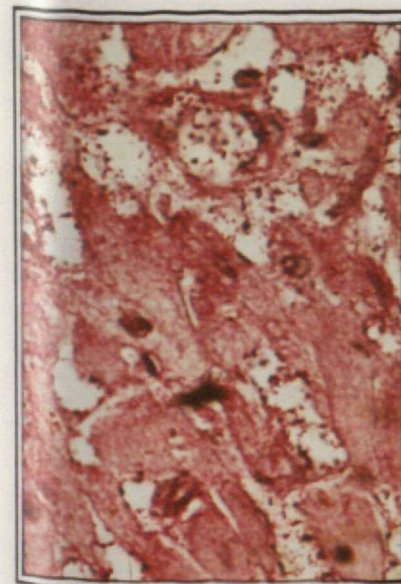
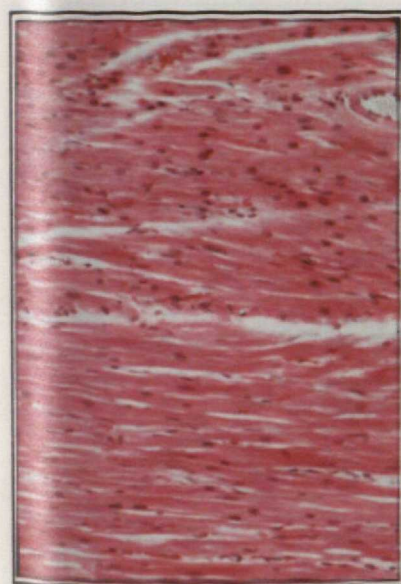
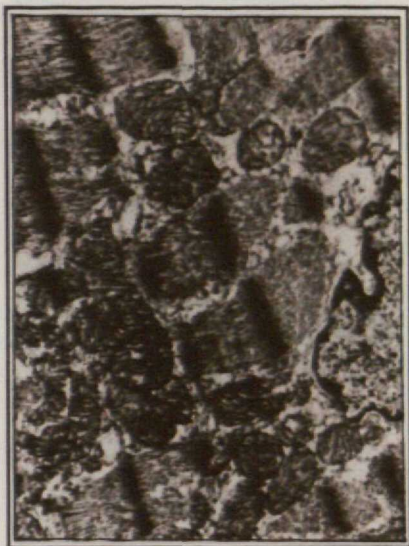
150

180

CARDIOPLEGIA C.P.H.

FIG. 17

131



30

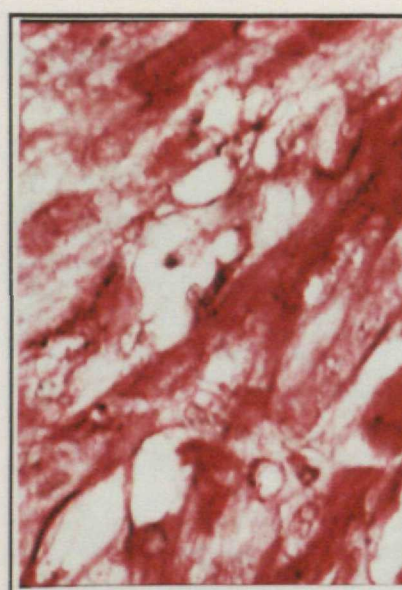
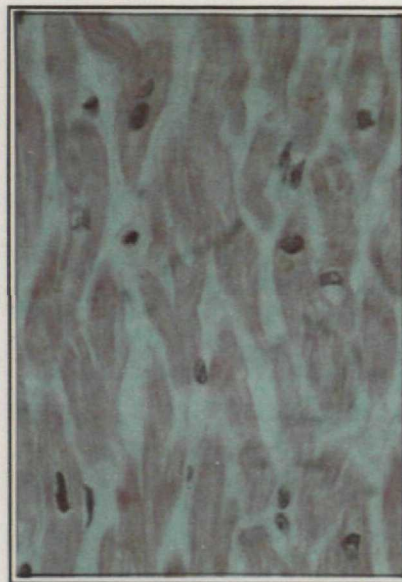
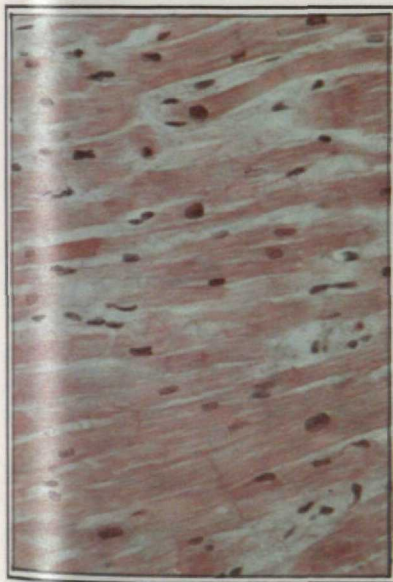
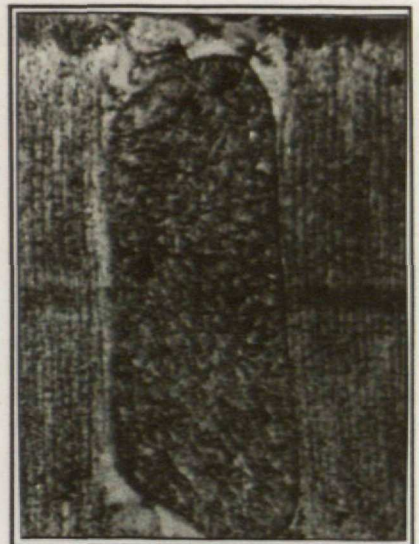
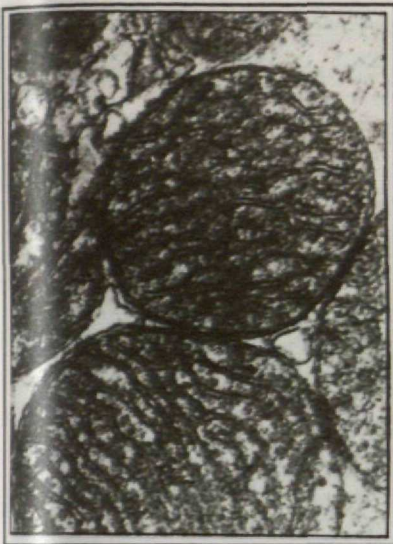
60

90

CARDIOPLEGIA C.P.H.

FIG. 18

132



30

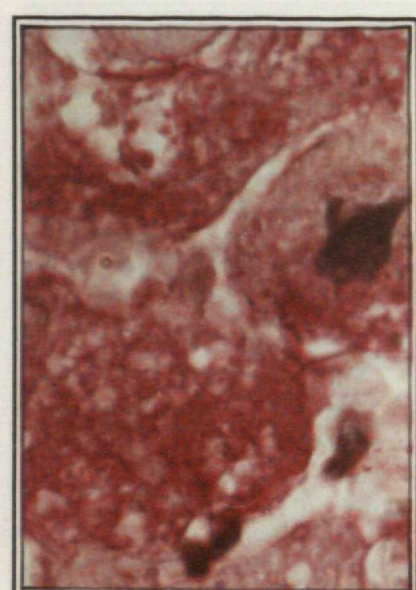
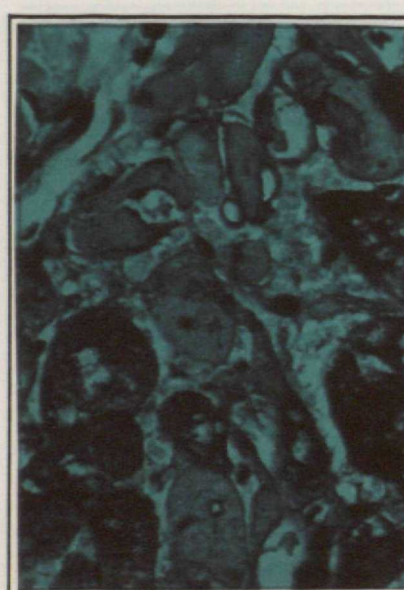
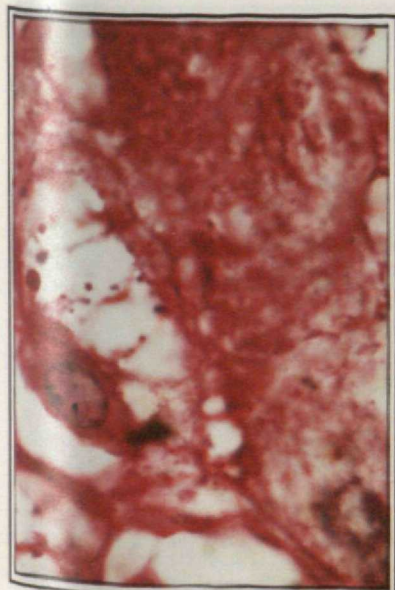
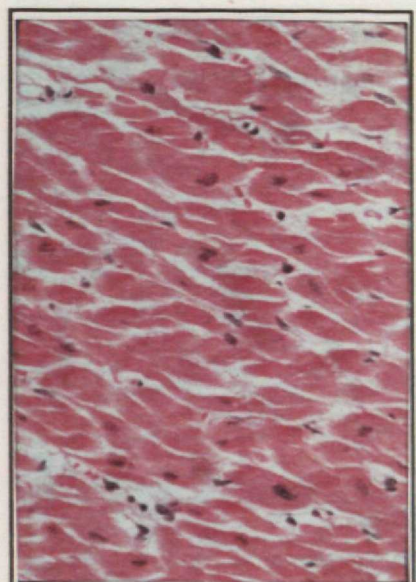
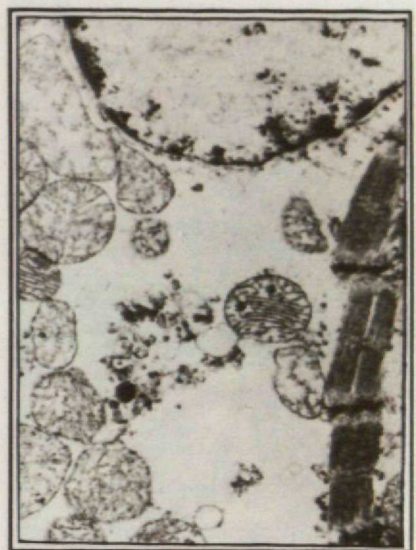
60

90

CARDIOPLEGIA OXIGENADA

FIG. 19

133



120

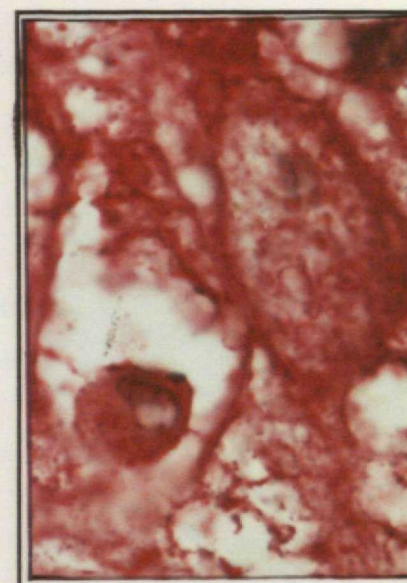
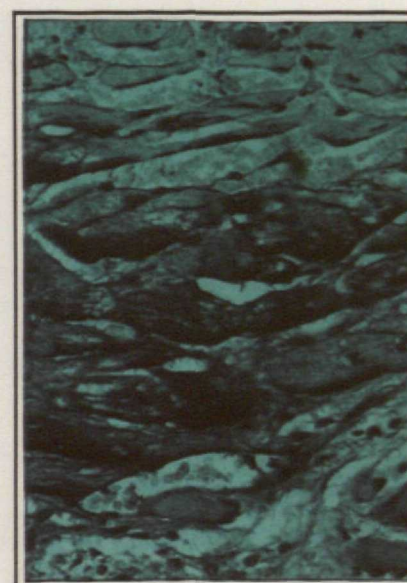
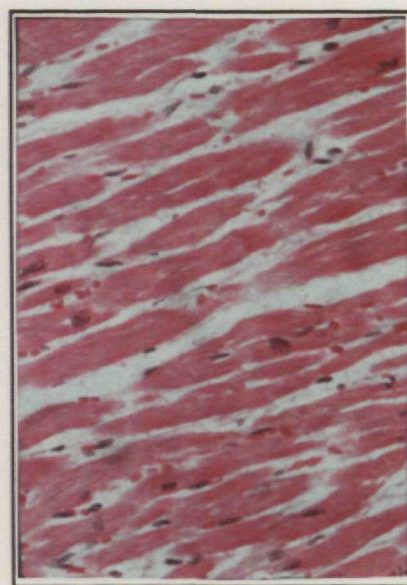
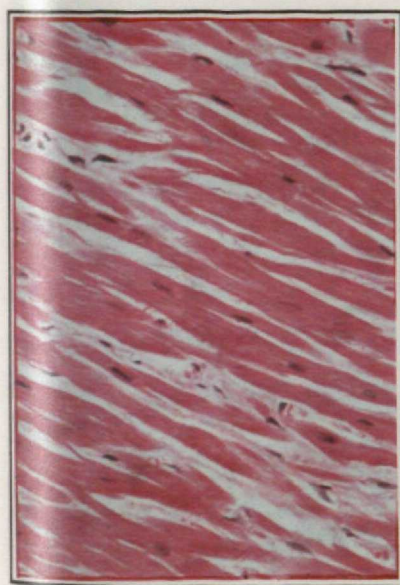
150

180

CARDIOPLEGIA OXIGENADA

FIG. 20

134



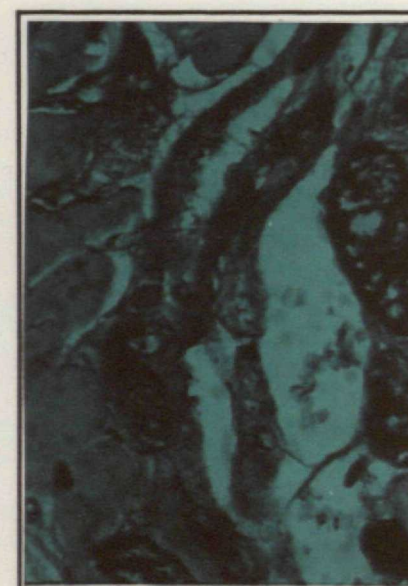
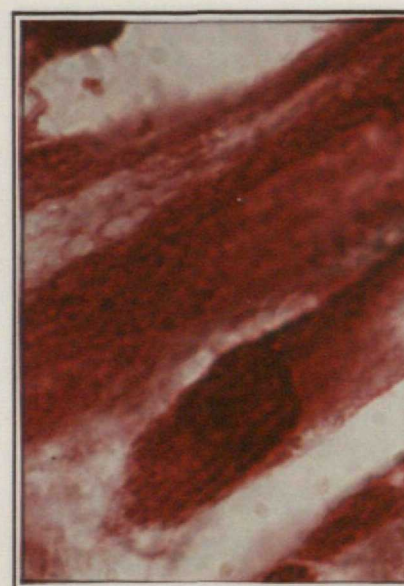
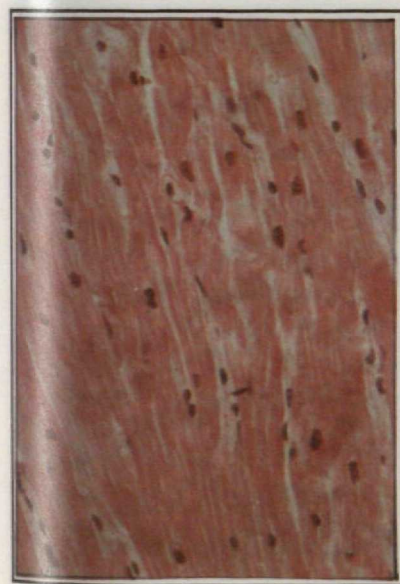
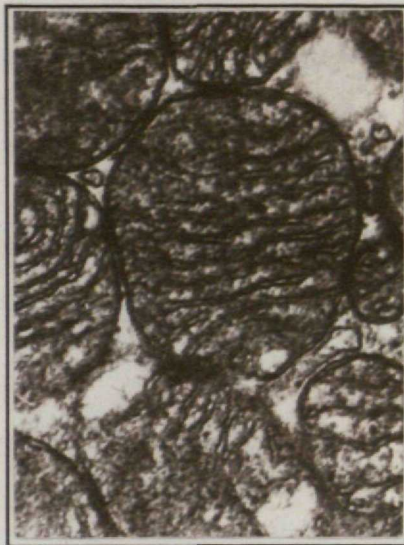
30

60

90

CARDIOPLEGIA OXIGENADA

FIG. 21
135



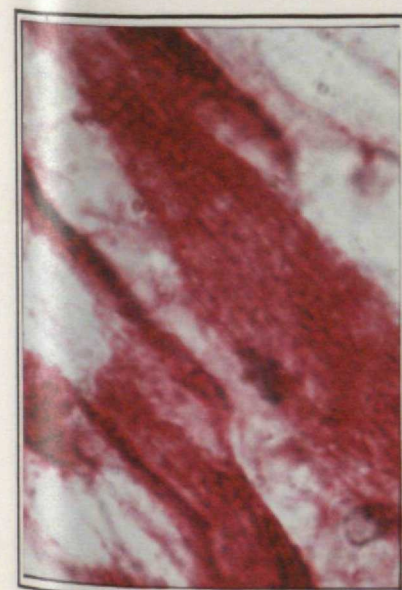
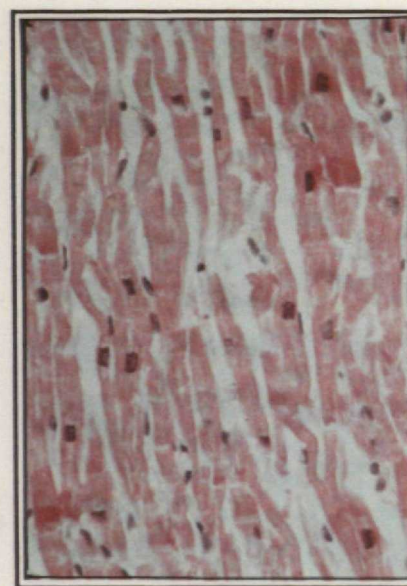
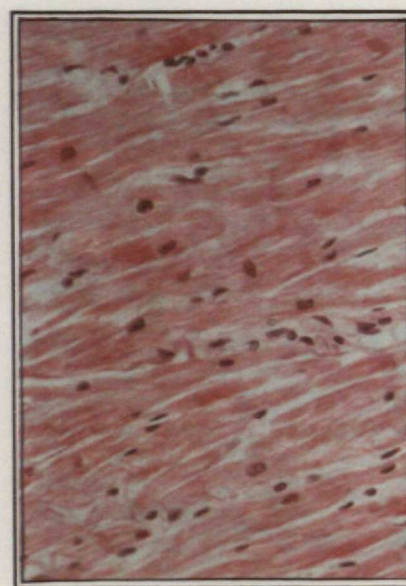
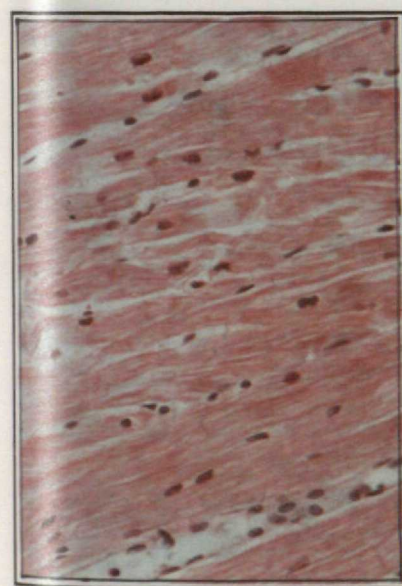
30

60

90

CARDIOPLEGIA HEMATICA

FIG. 22
136



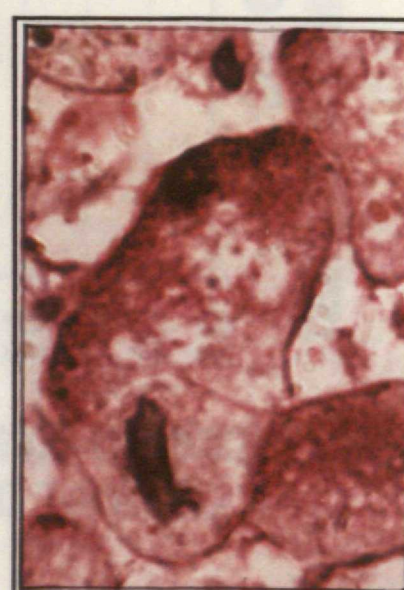
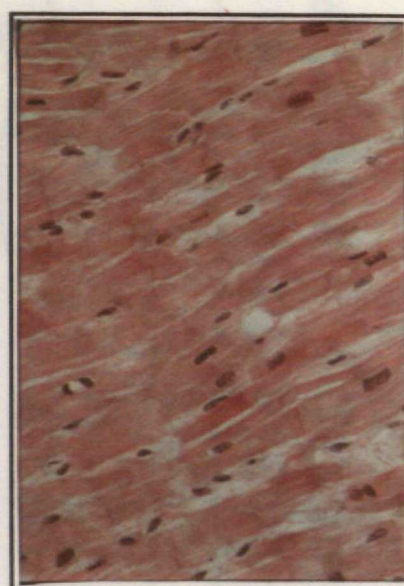
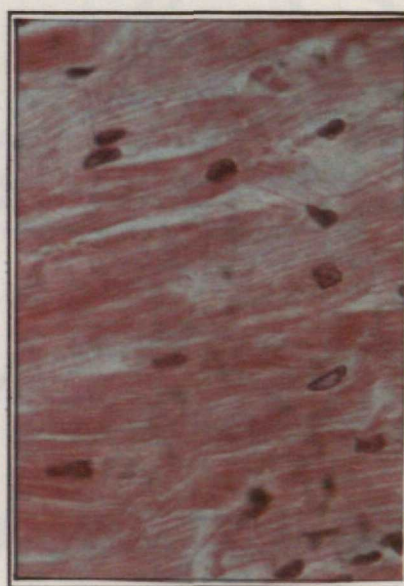
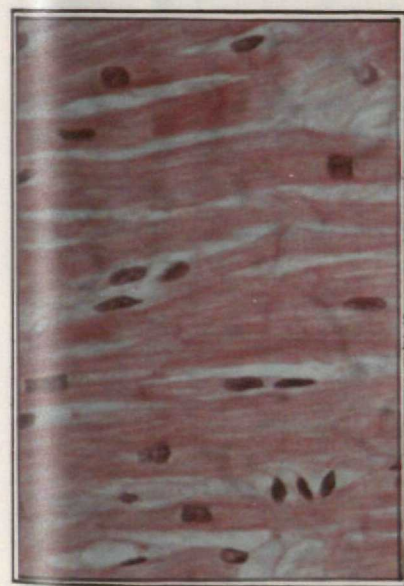
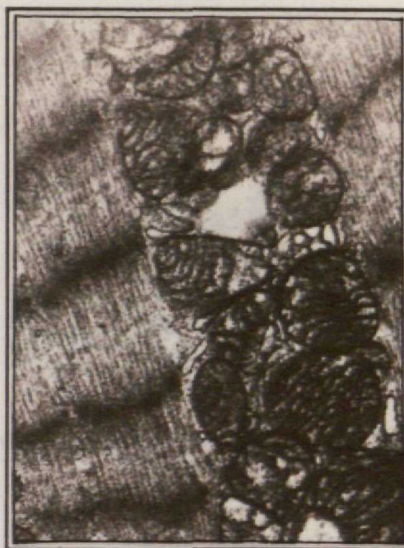
120

150

180

CARDIOPLEGIA HEMATICA

FIG. 23
137



30

60

90

CARDIOPLEGIA HEMATICA

EVOLUCION DE A.T.P.

% DEL TOTAL DE μ mol DE A.T.P./gr. DE PESO HUMEDO
TOMANDO COMO 100% LAS MUESTRAS CONTROL

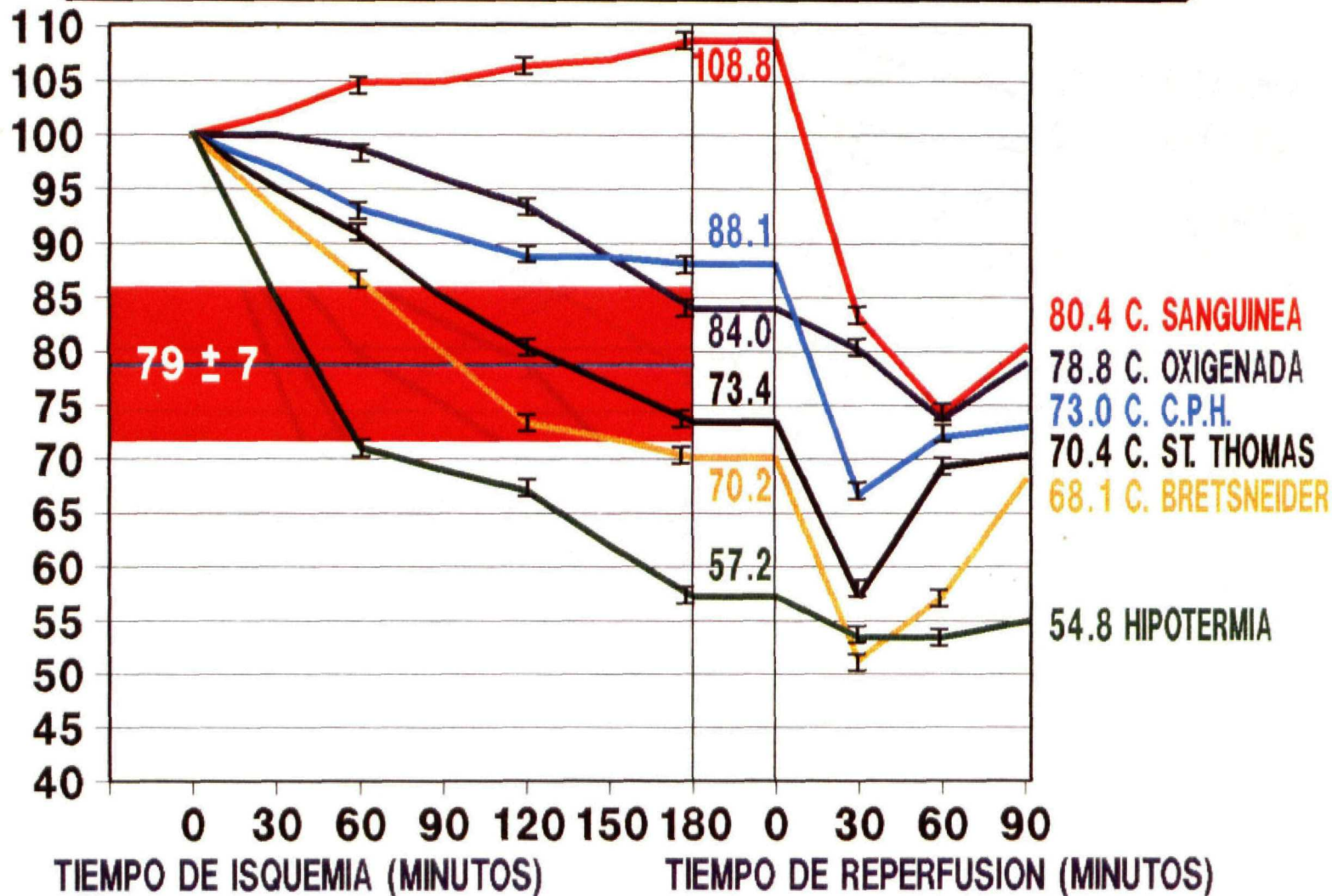


GRAFICO 1

EVOLUCION DE C.P.

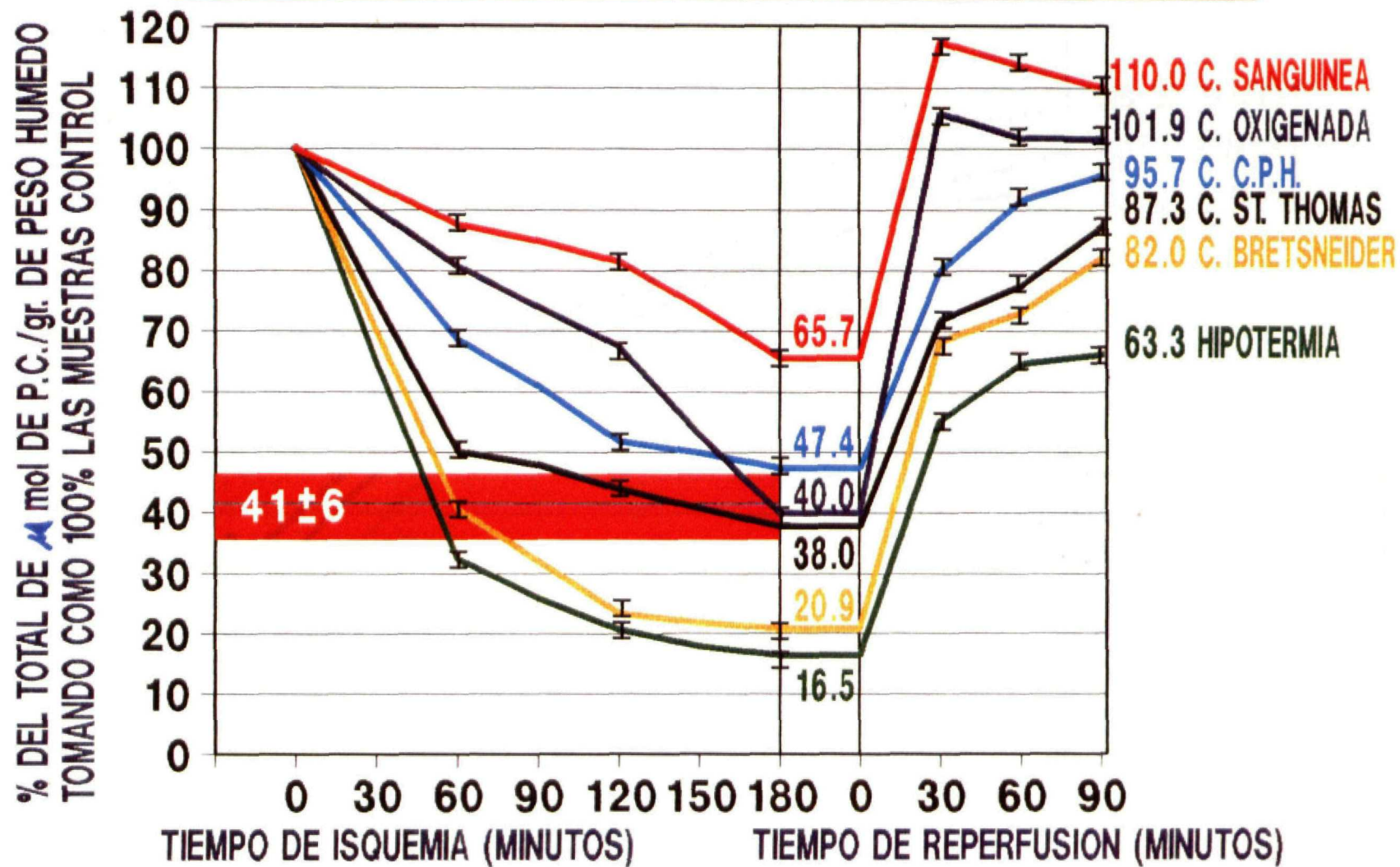


GRAFICO 2

CURVAS DE RECALENTAMIENTO DEL V.I.

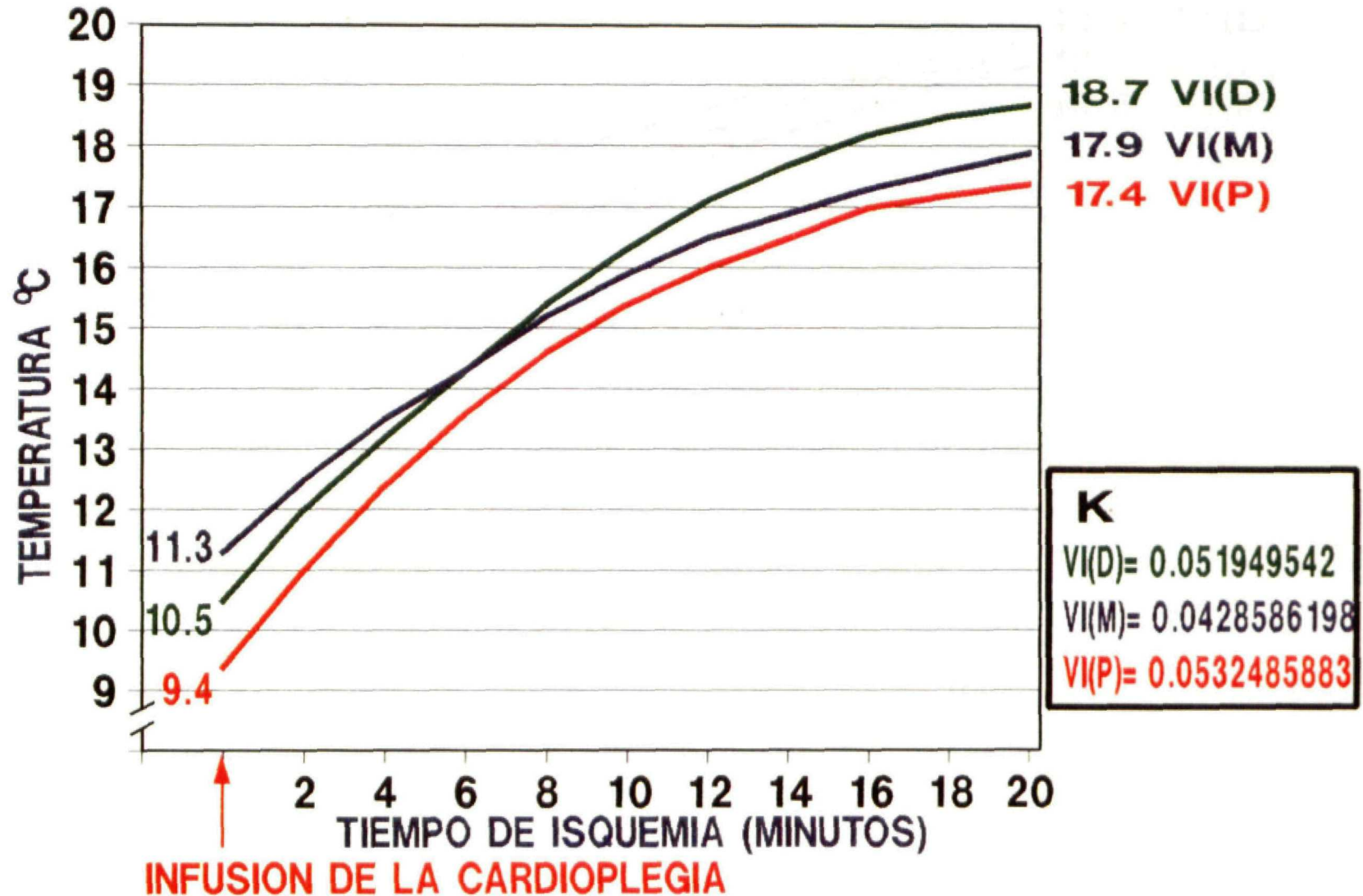


GRAFICO 3

CURVAS DE RECALENTAMIENTO DEL V.D.

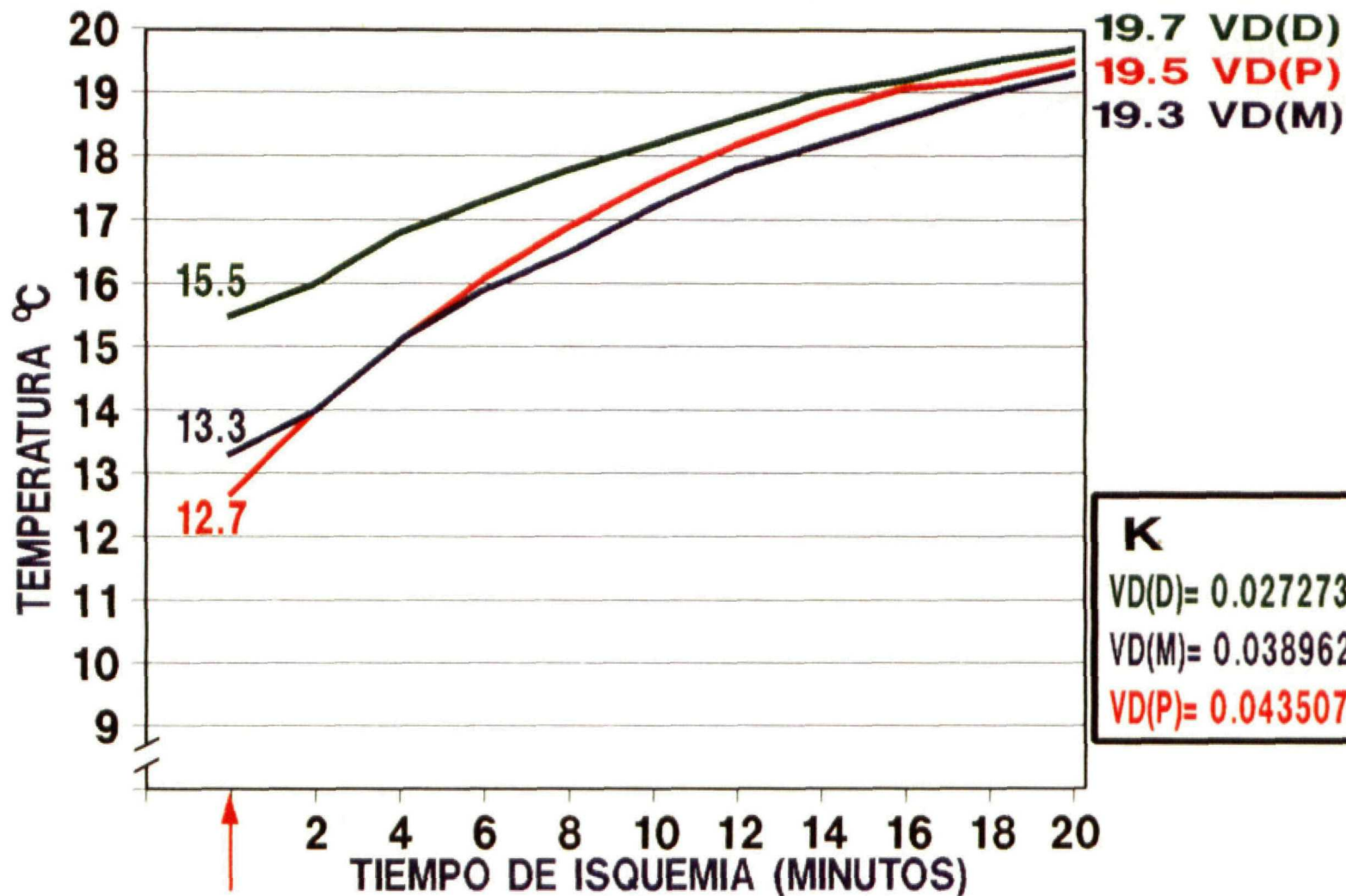


GRAFICO 4 **INFUSION DE LA CARDIOPLEGIA**

CURVAS DE RECALENTAMIENTO DEL SEPTO

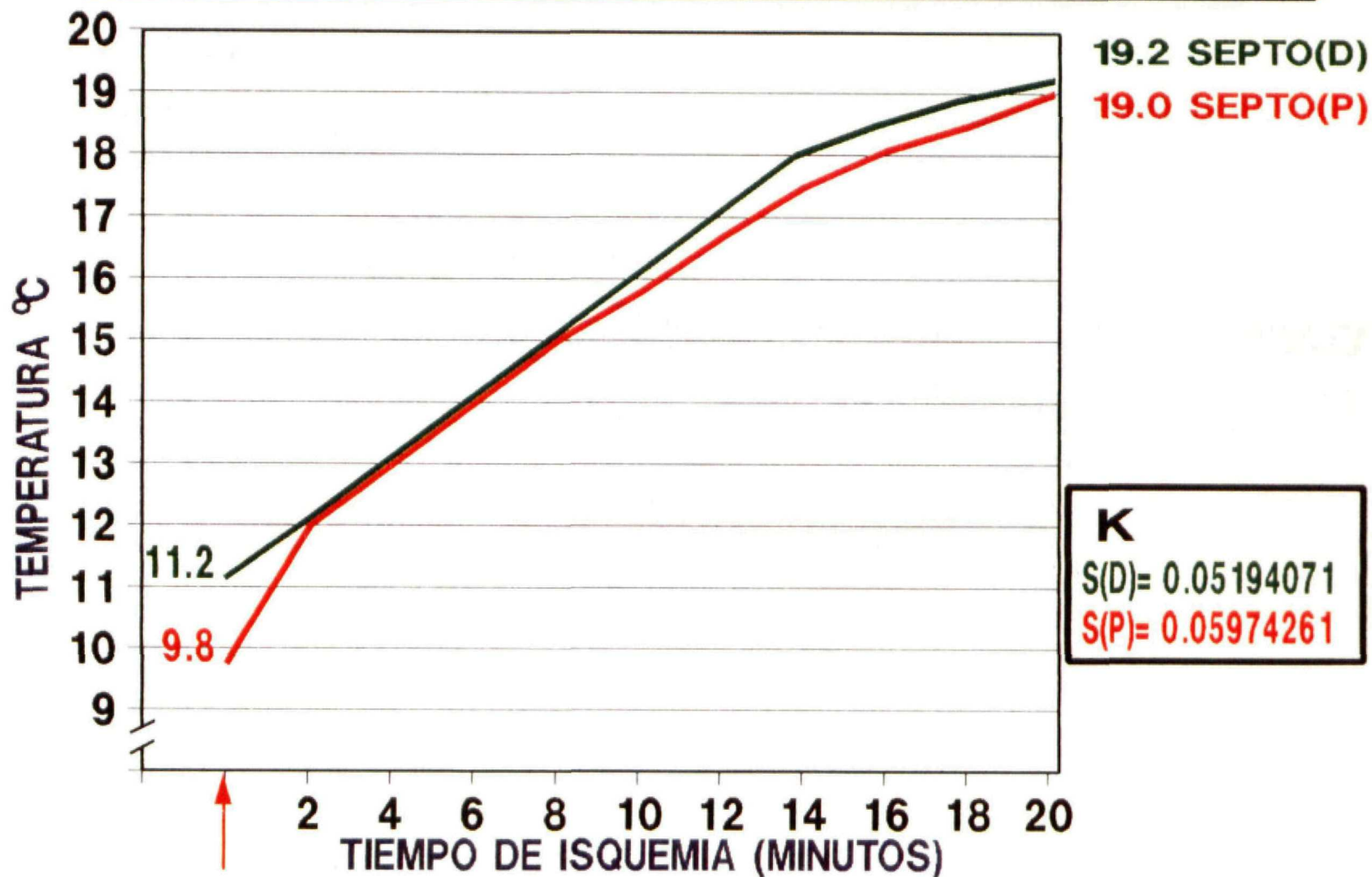


GRAFICO 5 **INFUSION DE LA CARDIOPLEGIA**

EVOLUCION DEL pH

INICIAL
 7.12 ± 0.09

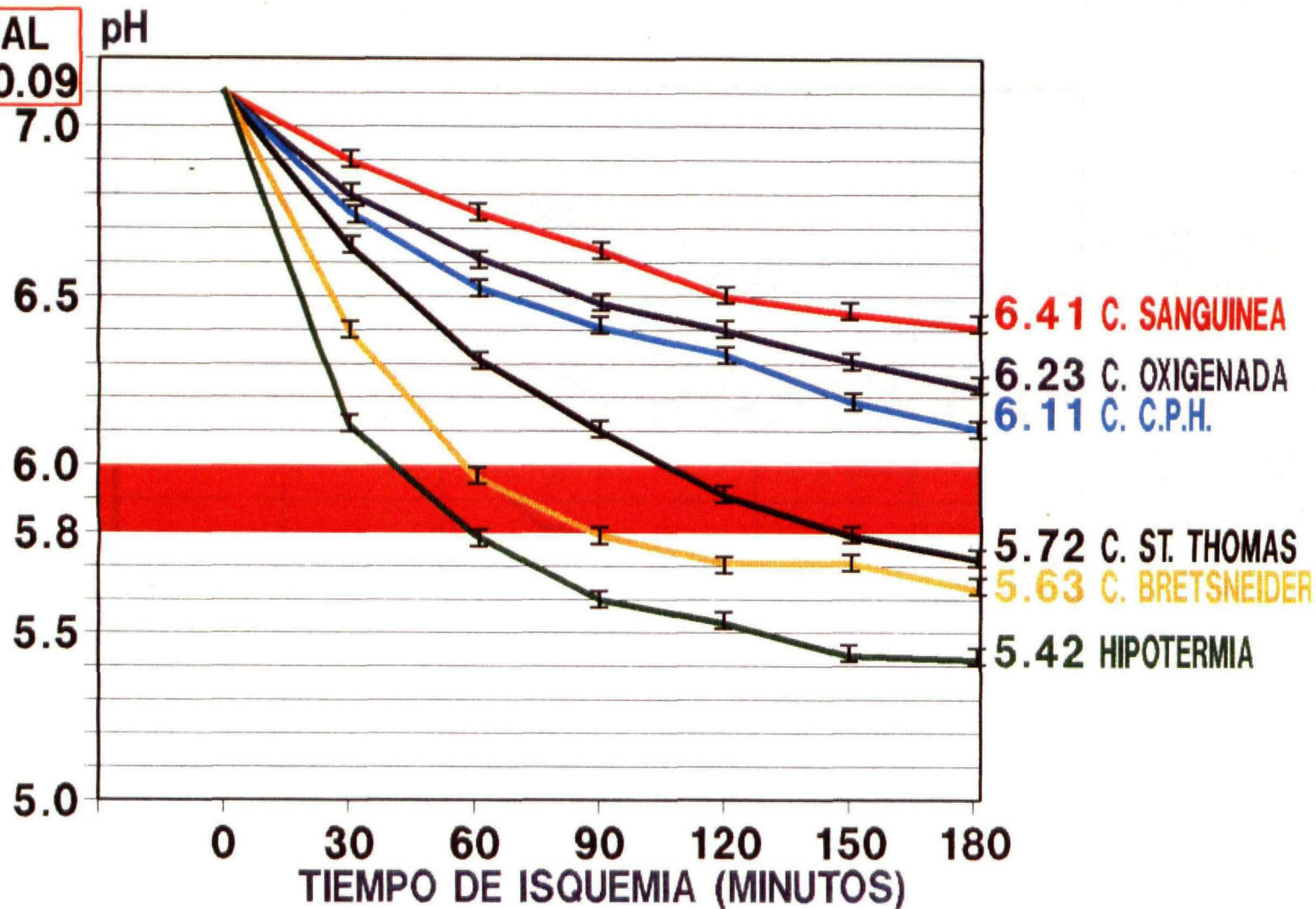


GRAFICO 6

REPRESENTACION LOGARITMICA DE LA EVOLUCION DEL pH

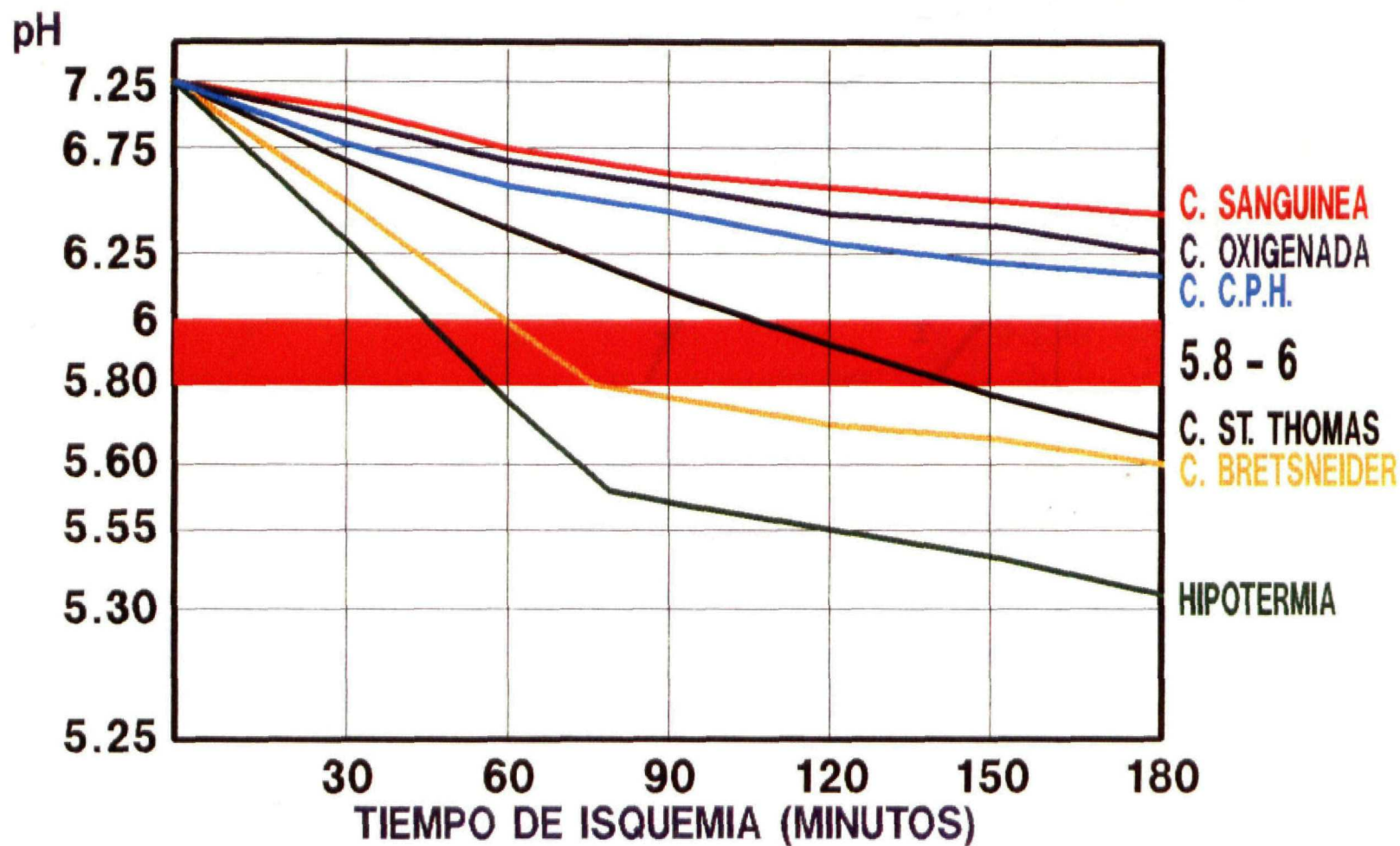


GRAFICO 7

EVOLUCION DE LA CONTRACCION MIOCARDICA

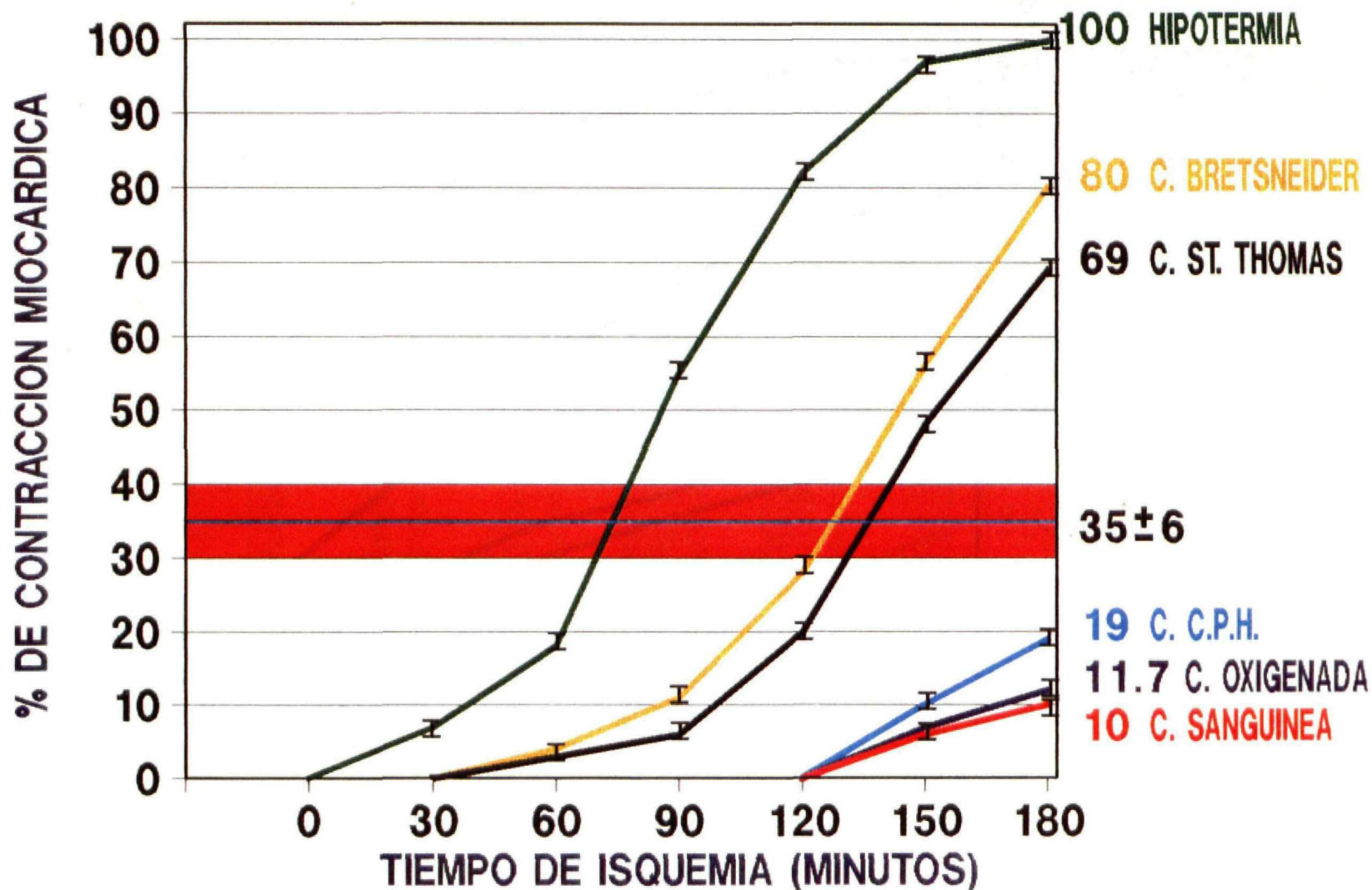


GRAFICO 8

EVOLUCION DE LA LESION MIOCARDICA

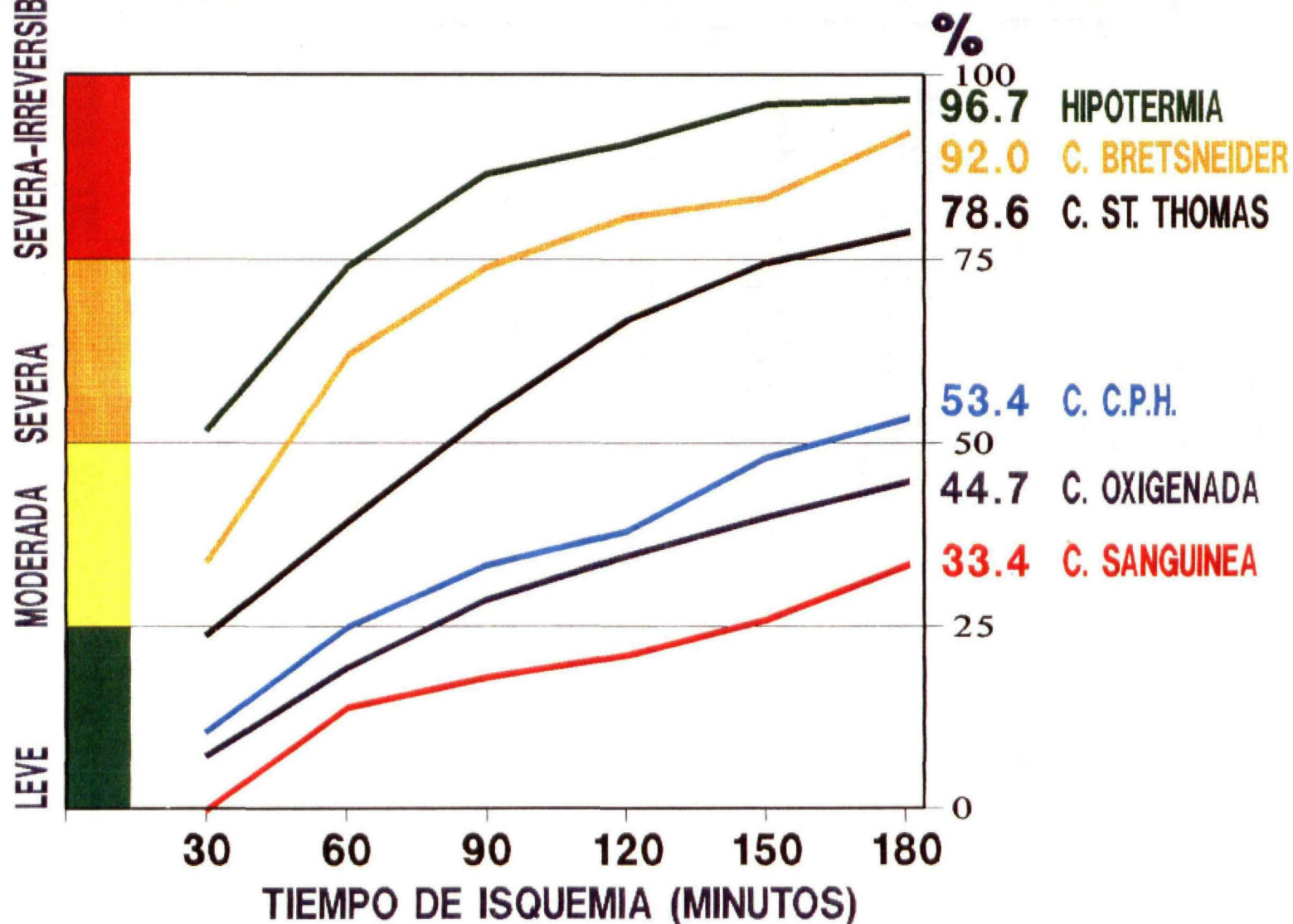


GRAFICO 9

EVOLUCION DE LA LESION MIOCARDICA

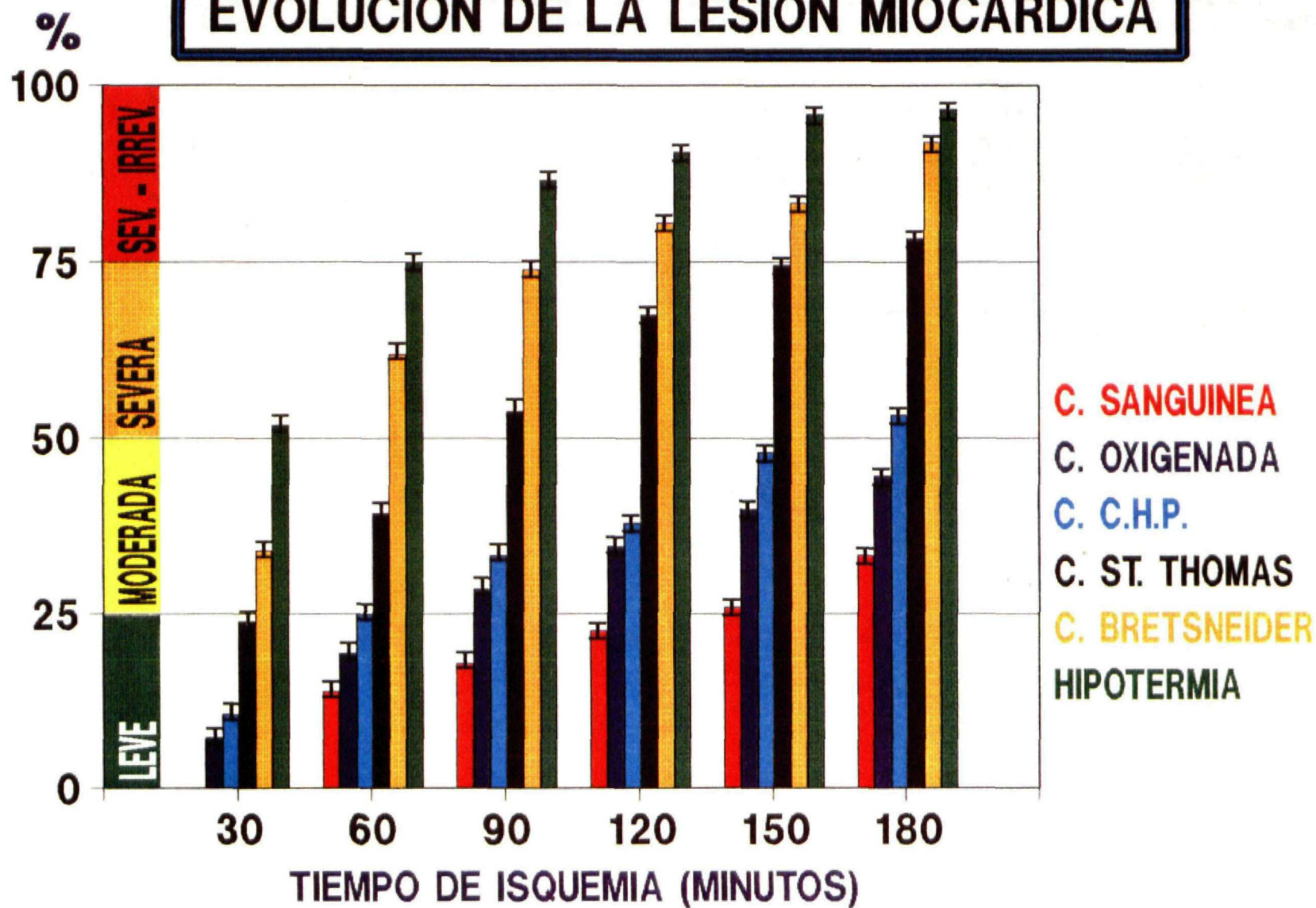


GRAFICO 10

EVOLUCION DE LA LESION DE REPERFUSION

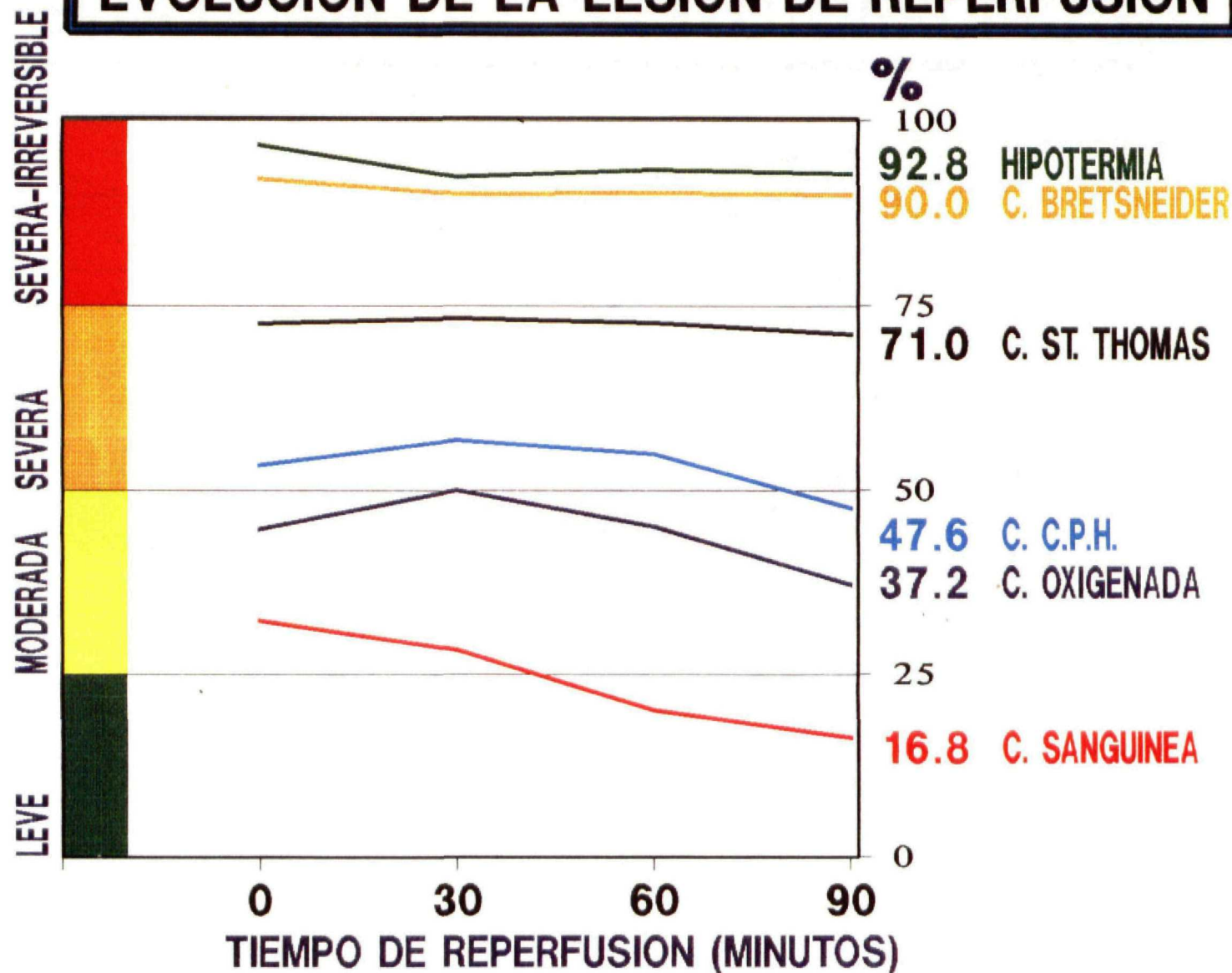


GRAFICO II

EVOLUCION DEL GASTO CARDIACO

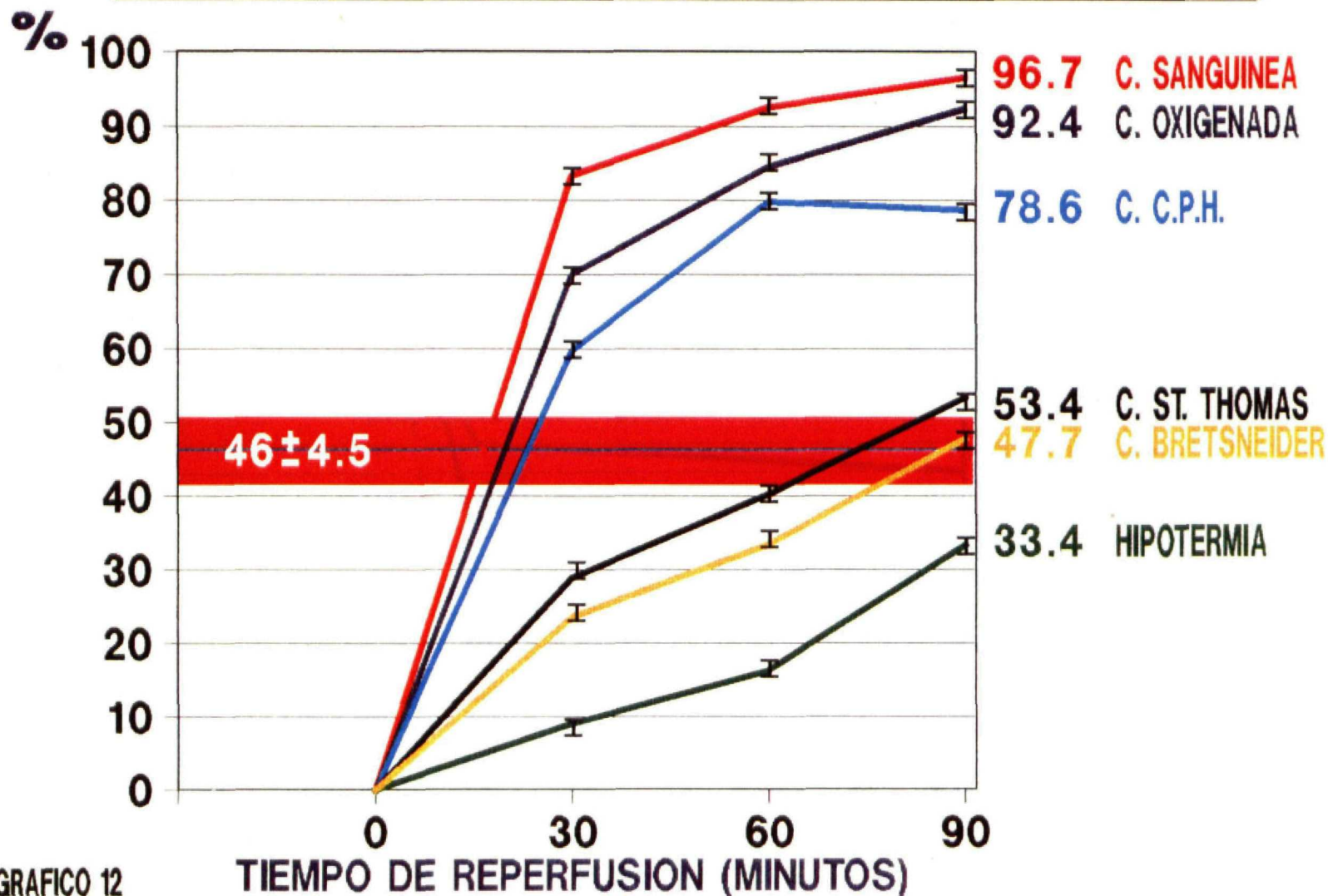


GRAFICO 12

EVOLUCION DE LAS TEMPERATURAS MONITORIZADAS

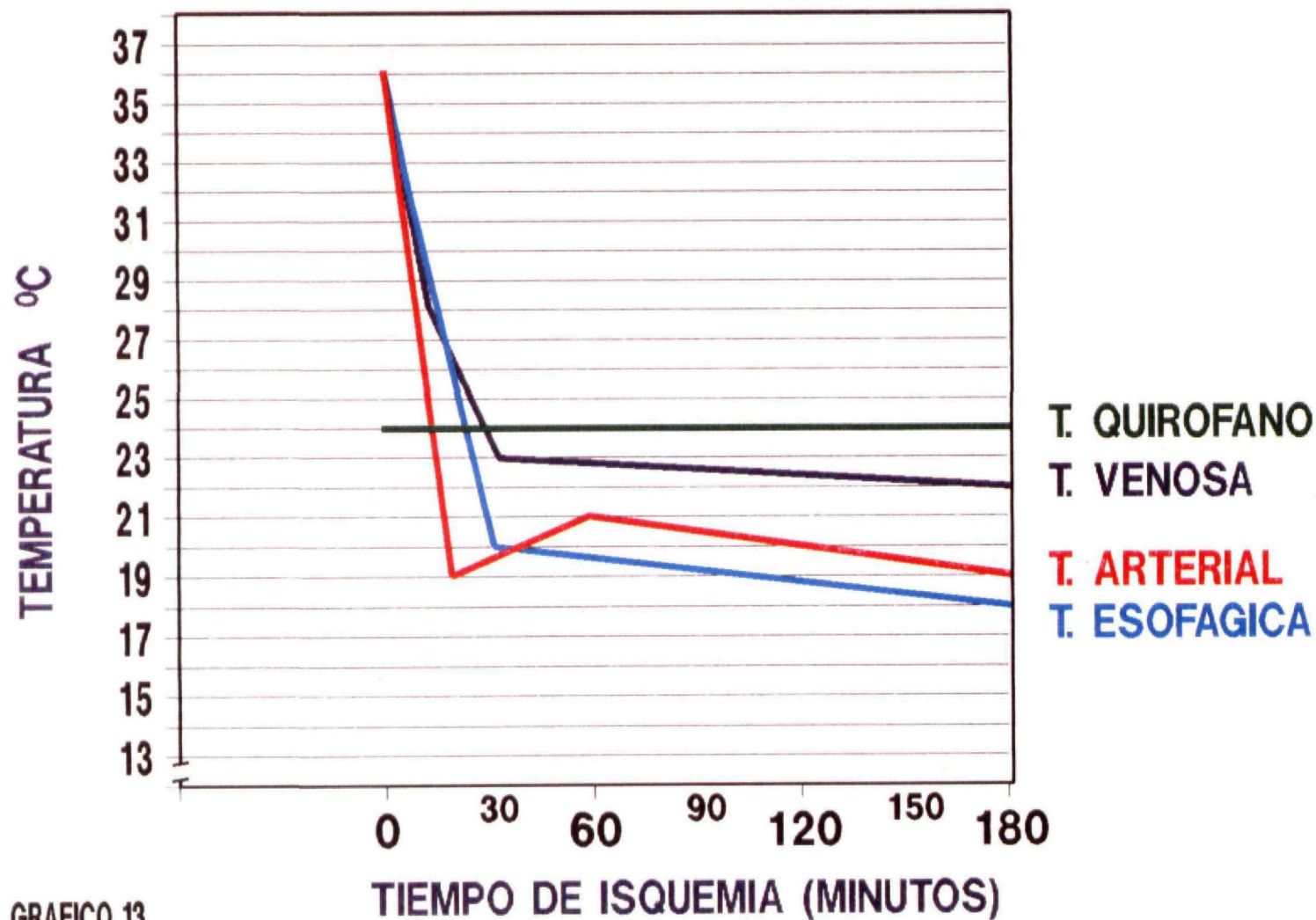


GRAFICO 13

DISCUSSION

DISCUSION

La composición de las diferentes soluciones cardioplégicas que se han utilizado, tanto en la clínica durante la cirugía cardiaca extracorporea como en el aspecto experimental varían ampliamente. La composición de estas soluciones tienen razones positivas al menos desde el punto de vista teórico para su formulación.

Existen tres principios básicos que debe cumplir cualquier solución cardioplégica y que son:

- A.- Conservación de los depósitos energéticos mediante la inducción química de una parada cardiaca rápida, completa, y en diástole.
- B.- Enlentecimiento metabólico y del proceso degradativo a través de los efectos que la hipotermia produce en estos dos procesos.
- C.- La prevención o reversibilidad de los efectos perjudiciales que produce la isquemia, mediante la adición a las soluciones cardioplégicas de agentes

protectivos.

CONSERVACION DE LA ENERGIA

La isquemia miocárdica induce una rápida y dramática reducción de la actividad contractil, pudiendo quedar después de la parada mecánica una actividad residual durante cierto tiempo, hasta que finalmente se produce la parada eléctrica definitiva. En el contexto de la cirugía cardiaca, esta actividad mecánica "no efectiva" que queda en el miocardio después del pinzamiento aórtico, es la responsable en gran parte de las pérdidas energéticas que afectan a la preservación de la integridad celular.

Existe una variedad de agentes químicos o de mecanismos para producir una parada total y rápida en diástole. Los más comunmente utilizados en las diferentes soluciones cardioplégicas son: Adición de potasio, deplección de calcio, acetilcolina, neostigmina, tetradoxium, etc.

La primera solución cardioplégica utilizada por Melrose (6) contenía 8 mEq/l de potasio. Desde este momento la mayoría de las soluciones cardioplégicas contienen potasio en diferentes proporciones, siendo este agente probablemente el más seguro

inductor de la parada cardiaca rápida en diástole.

HIPOTERMIA

La hipotermia ha sido usada ampliamente durante la cirugía cardiaca como protección del corazón y de otros órganos como cerebro, riñones, hígado, etc. (197)

La hipotermia cardiaca se consigue mediante la infusión de soluciones a través del árbol coronario (6) (198). El principal efecto de la hipotermia sobre el corazón es el enlentecimiento del proceso metabólico (199).

En suma la hipotermia reduce el daño celular secundario al proceso isquémico, a la degradación del metabolismo y a la aparición de metabolitos tóxicos que se generan durante la isquemia (200).

Los efectos protectivos de la hipotermia son diferentes a los proporcionados por los agentes aditivos, y diferentes a los producidos por la parada química (201) (202).

CAMBIOS GENERADOS DURANTE LA ISQUEMIA

Cuando se inicia la isquemia miocárdica comienzan una serie

de cambios progresivos que tienen como resultado final la muerte celular y la necrosis tisular (203) (204) (205). El efecto dominante de la injuria isquémica es la deplección energética (204) (206). Este efecto puede ser contrarrestado en parte mediante el primer efecto de la cardioplejia (generar una parada rápida y efectiva en diástole) y mediante la administración de substratos aeróbicos y anaeróbicos tanto en las soluciones cristaloides como en las sanguíneas (207) (208) (209) (210) (211) (212). Sin embargo existen además una serie de cambios, algunos de ellos conocidos y otros desconocidos que se generan como consecuencia del proceso isquémico, como son la desfavorable redistribución de los iones, pérdida de metabolitos y cofactores, pérdida en el control del volumen celular, desarrollo de acidosis, disrupción física de la arquitectura celular y de estructuras subcelulares, pérdida en el control y de la integridad de las vías metabólicas (213) (217).

Varias intervenciones "anti-isquémicas" se han sugerido para reducir o retrasar los cambios críticos que se producen durante la isquemia. Se ha preconizado el uso de esteroides como estabilizadores de la membrana celular y de partículas subcelulares como los lisosomas. También se ha utilizado la glucosa y la insulina como soporte y estimulación de la producción de energía anaeróbica. La administración de oxígeno en sangre o en soluciones cristaloides para la estimulación del metabolismo aeróbico o anaeróbico. El uso de buffers extracelulares para contrarrestar la acidosis intracelular. La

modificación en la composición iónica extracelular para prevenir las pérdidas intracelulares de potasio, magnesio o la acumulación de calcio (218) (223).

El manitol se ha utilizado para prevenir el edema celular, y los substratores o inhibidores de los radicales libres de oxígeno como los superóxidos o los radicales libres hidroxilo (224) (229).

ASPECTOS CRITICOS DE LA INJURIA ISQUEMICA

La mejor forma de evidenciar el disbalance energético que se produce durante la isquemia miocárdica desde el punto de vista bioquímico es mediante el estudio de la deplección de fosfatos de alta energía, Adenosin Trifosfato y Creatin Fosfato (ATP y CP). Desde hace tiempo se conoce que la deplección de ATP y CP guarda cierta relación con el grado de injuria isquémica miocárdica (230) (233). Sin embargo los límites en los cuales la lesión miocárdica pasa de ser reversible a irreversible no están establecidos. En nuestro trabajo experimental hemos correlacionado el grado de lesión celular, estudiada desde el punto de vista ultraestructural, histológico y grado de deplección de glucógeno, con las pérdidas de fosfatos de alta energía (ATP y CP) encontrándose que cuando existían al menos un 50% de lesiones severas después de analizar los nueve parámetros histológicos de la TABLA IV, el grado de deplección del CP es superior a $59 \pm 6 \%$ del tomado como basal (antes del inicio de

la isquemia) y que para el ATP sucedía cuando la deplección alcanzaba la cifra de $21 \pm 7 \%$. Estas cifras son porcentuales y están referidas al número de umoles de CP o de ATP / gr de peso húmedo (115).

Por otra parte, alteraciones en la homeostasis del calcio generadas durante la isquemia severa y durante la reperfusión, se han asociado con múltiples aspectos de la lesión tisular, particularmente asociadas a disfunciones de la membrana celular. Las alteraciones en la homeostasis del calcio también se relacionan con la citotoxicidad del oxígeno sobre la membrana celular durante el periodo de reperfusión.

LESION CELULAR GENERADA POR LAS ALTERACIONES DEL CALCIO

El calcio es necesario para una variedad de funciones celulares tales como; el mantenimiento funcional de los sistemas enzimáticos y la activación del aparato contractil de la célula. Después de la infusión cardiopléjica la actividad extracelular del calcio puede ser modificada de acuerdo con la composición de la solución. Durante la reperfusión el calcio contenido en la sangre es readmitido dentro del miocardio. La disponibilidad del calcio y su redistribución durante la isquemia y la reperfusión es un determinante crítico en la extensión de la lesión celular, este calcio está definido como "calcio paradójico". Este término fue introducido por Zimmerman (76) (77) (234) (235) y colaboradores para describir el daño tisular (liberación masiva de

proteínas y enzimas, pérdida de la excitabilidad eléctrica y desarrollo de contractura) que ocurre cuando el miocardio es reperfundido con un contenido medio de calcio, después de un periodo de reperfusión normotérmica con calcio libre. Esta lesión puede ser atribuida al masivo influjo del calcio extracelular seguido del periodo de deplección del calcio (126) (235) (236) (237) (239). Sin embargo este efecto puede ser prevenido mediante la introducción de cantidades superiores a 25 microgramos de calcio en la solución de reperfusión durante el periodo de calcio libre (periodo de reperfusión). Esto puede ser explicado por el hecho de que durante el periodo de reperfusión, el calcio es lavado del espacio extracelular existiendo una separación distintiva en la lámina superficial de la membrana celular. Esta separación entre capa bilípídica y la glucolípida se ha asociado con un incremento de la permeabilidad del calcio con el consiguiente flujo de calcio que ocurre durante el periodo de reperfusión (240) (244).

Pequeñas cantidades adicionales a las soluciones cardiopléjicas o contaminadas por el flujo sanguíneo colateral, normalmente son suficientes para prevenir este fenómeno.

Varios argumentos se han empleado en contra de las bajas concentraciones de calcio en las soluciones cardiopléjicas. En condiciones patológicas el calcio puede entrar además en la célula por difusión especialmente a través de los canales lentos del calcio (245) (246) (247). Con la inducción de la cardioplejia

las bombas iónicas de las membranas se desactivan debido a la despolarización, posteriormente la difusión es un factor importante en la redistribución de los iones. Bajo estas condiciones incluso en presencia de suficiente calcio para mantener la actividad de las membranas bilipídicas y glucolipídicas puede ocurrir una pérdida dramática de calcio cuando la célula se reoxigena durante el periodo de reperfusión.

Boe y asociados (248) han demostrado con calcio marcado con isótopos un mínimo flujo de calcio durante la oclusión completa de la raíz aórtica, pero se incrementa en un valor superior a 18 veces durante los 10 minutos iniciales de la reperfusión. Esta alteración del flujo del calcio contribuye a un tipo de anormal contractura muscular con prolongación de la relajación y alteración en la producción de fosfatos de alta energía (ATP y CP) debido a la excesiva producción mitocondrial de calcio (249).

Para tratar de valorar el grado de contractura o contracción miocárdica, hemos utilizado un transductor de presión Modelo Scheavitz, serie P-3000 y que mide variaciones de presión entre 0 y 3 mm de Hg y que el error máximo cometido oscila entre 0 y 0.015 mm de Hg. Los resultados los hemos ofrecido porcentualmente entre 0 en el momento del inicio de la isquemia (después de inyectada la solución cardiopléjica) y 100, momento de la máxima contractura a los 180 minutos de la parada isquémica hipotérmica. Hemos observado en este estudio experimental que el grado de contractura superior a 35 ± 6 (% de contracción en la escala

construida) se asociaba con un índice de lesiones histológicas miocárdicas de severidad superior al 50% y unas pérdidas de fosfatos de alta energía de ATP superior a $79\% \pm 7$ y de CP de $41\% \pm 6$.

LESION MIOCARDICA RELACIONADA CON LOS RADICALES LIBRES DE OXIGENO

El posible papel de la citotoxicidad del oxígeno en la fisiopatología de la isquemia ha recobrado últimamente interés. Durante la isquemia la deplección de los superóxidos-desmutasas produce un empeoramiento de los mecanismos de defensa endógenos (85) (110) (250). Durante la reperfusión los metabolitos oxigenados citotóxicos se generan en células con metabolismo aeróbico los cuales incluyen el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno $H_2 O_2$ y los radicales libres hidroxilo OH^-

Probablemente la lesión de reperfusión no ocurre durante el periodo de isquemia sino cuando el oxígeno molecular se introduce en los tejidos (251) (252) (255). Se piensa que la lesión está producida por una peroxidación de los ácidos grasos insaturados de la membrana celular iniciada por las moléculas con radicales libres de oxígeno.

La mayor fuente de radicales superóxido en el tejido postisquémico es el enzima xantino oxidasa. El enzima es inicialmente sintetizado por una xantino deshidrogenasa y convertido en xantino oxidasa (245) (254). La xantina puede usar oxígeno molecular produciendo superóxido y peróxido de hidrógeno o ambos. McCord y colaboradores encuentran que la xantino

deshidrogenasa se convierte en xantino oxidasa en el tejido isquémico. Esta conversión puede estar mediatizada por los gradientes iónicos transmembrana inducidos durante la isquemia y por la redistribución del ión calcio. El tejido isquémico se depleciona progresivamente de ATP, aumentando la concentración de AMP que posteriormente se cataboliza en adenosina, inosina e hipoxantina. Tanto la hipoxantina como la xantina sirven a los substratos de purina para la xantino deshidrogenasa u oxidasa. Los restantes substratos de oxígeno molecular se convierten rápidamente durante la reperfusión en radicales superóxido y peróxido de hidrógeno. Normalmente la xantina utiliza todo el NAD⁺ para producir NADH. Ya Hearse en 1975 demostraba que los peróxidos y consecuentemente la peroxidación de los lípidos causaban un aumento en la permeabilidad de la lipoproteínas de la membrana celular que posteriormente contribuyen a la alteración en la homeostasis del calcio.

ADITIVOS USADOS EN LAS SOLUCIONES CARDIOPLEJICAS

En este apartado discutiremos los aditivos más usados en las diferentes soluciones cardioplégicas tales como la hipotermia, calcio, potasio, magnesio, anestésicos locales, antagonistas del calcio, fosfatos de alta energía extracelular, estatus acido-base cardioplégicas sanguíneas y asanguíneas.

Desde el punto de vista general las cardioplégicas se dividen en dos grandes grupos: las que se basan en

concentraciones similares a las de los líquidos extracelulares y las que la concentración es parecida a la intracelular.

Las de composición extracelular se usaron primitivamente en U.S.A. siguiendo las recomendaciones de Tyers y Conti (24, (35), (98) (255) y en Inglaterra y Europa siguiendo las recomendaciones de Hearse.

La principal ventaja de las cardioplejias de tipo extracelular son sus características de equilibrio con el tejido miocárdico. Es de notar que la concentración de calcio es normal o moderadamente reducida. Con estas cardioplejias la parada cardiaca se consigue elevando la concentración de potasio o añadiendo magnesio, o usando drogas que activan ciertos iones tales como los anestésicos locales o los bloqueantes de calcio.

las cardioplejicas de tipo intracelular han sido aconsejadas por Bretschneider (30) (169) (32) (96) y por Kirsch, generalmente poseen pequeñas cantidades o ausencia de sodio y no contienen calcio. La mayor ventaja de estas cardioplejia es su amplio espacio osmolar debido a su escaso contenido en sodio, y este espacio puede ser utilizado por altas concentraciones de glucosa, destrosa, manitol o histiclina sin el peligro de desarrollar altas concentraciones osmolares. La principal desventaja es que por las bajas concentraciones de sodio y la ausencia de calcio predisponen a la existencia del calcio paradójico. El riesgo de lavado del calcio de las membranas bilipídicas y la glucolipídica

predispone a alterar los resultados dependiendo del volumen de solución empleada. Jynge (256) ha demostrado que volúmenes bajos de infusión proporcionan buena protección, con volúmenes medianos la protección es más dudosa, y con volúmenes altos se exacerba la lesión tisular. La etiología de estos procesos guarda relación con alteraciones en el control del calcio.

HIPOTERMIA

La hipotermia como método protectivo durante la isquemia quirúrgica ha sido aceptada por la mayoría de los autores (35) (148) (192) (257) (258) (259) (260) (261) (262) (267). La hipotermia enlentece el metabolismo y reduce las demandas energéticas, evitando la deplección de los depósitos de alta energía. La hipotermia por sí sola induce lesión celular por inhibición de la bomba del calcio y genera pérdidas en la homeostasis del calcio.

La óptima temperatura con la que se consigue la máxima protección con el mínimo daño celular ha sido siempre objeto de interés. Tyler y colaboradores han demostrado que la reconversión del metabolismo es mejor cuando la temperatura miocárdica oscila entre 10 y 15°C y se produce una rápida recuperación de los fosfatos de alta energía y del glucógeno como ocurrió en nuestro experimento. Hearse encuentra los mismos resultados cuando la temperatura miocárdica estaba debajo de 20°C. Otros autores han encontrado mayor deterioro en la función metabólica cuando la

temperatura baja por debajo de 4°C. La actividad metabólica y subsecuentemente la acidosis intracelular es el principal factor que actúa como detrimento del metabolismo durante los periodos de isquemia.

La hipotermia tónica aislada se ha empleado desde el comienzo de la cirugía cardíaca. Desde el punto de vista clínico suele ser bien tolerada sin embargo puede ocurrir en muchos casos alteraciones estructurales y funcionales. Por otra parte cuando se emplea en corazones hipertróficos, el efecto protector es más dudoso además de crearse gradientes térmicos intramiocárdicos que agravan aún más la lesión miocárdica. En la actualidad no tiene sentido su uso aislado y se asocia en unión a la protección miocárdica proporcionada por las soluciones cardioplégicas (268) (21) (40) (268).

En definitiva la temperatura óptima para conseguir la máxima protección oscila entre 10 y 20°C, debiéndose evitar temperaturas por debajo de 4°C. La hipotermia protege contra la deplección de los depósitos de alta energía, de las alteraciones del calcio libre, y probablemente estabiliza el sarcolema y la capa de glucolípidos contra las lesiones producidas por los radicales libre de oxígeno que se producen durante la reperfusión.

En nuestro trabajo para valorar las oscilaciones de temperatura que se generan durante la hipotermia monitorizamos 3 puntos en el ventrículo izquierdo, proximal (P), medio (M) y distal (D); del mismo modo otros tres en el ventrículo derecho

y dos en el septum interventricular, proximal (P) y distal (D), gráficas 3, 4 y 5. las curvas de recalentamiento siguen una distribución exponencial de acuerdo con la siguiente ecuación $T(t) = T_v - (T_v - T_o) \cdot e^{-Kt}$. El valor de K es la constante de recalentamiento y traduce la velocidad con que se produce el calentamiento en las diferentes áreas analizadas. Los valores máximos de la constante K se produjeron a nivel del septo y en las partes distales de los ventrículos debido a la peor vascularización de estas zonas y por consiguiente menor distribución de la solución cardiopléjica en estas zonas.

pH MIOCARDICO

Uno de los principales metabolitos que se producen progresivamente durante el proceso isquémico es el ión hidrogeno (149). Si medimos el pH miocárdico (tanto el extracelular, como el intracelular o ambos) teóricamente deberemos tener un método muy sensible que nos indique el estatus del proceso isquémico. Múltiples métodos se han utilizado para medir el ión hidrógeno intracelular, el más reciente se ha efectuado con la Resonancia Nuclear Magnética (RNM) (271) (272) (273). En una excelente revisión de los diferentes métodos utilizados para medir el pH intracelular Poole-Wilson (166) concluye que la medición del pH intramiocárdico no tienen utilidad práctica cuando se aplican en los estados patológicos como ocurre durante el proceso isquémico. Recientes estudios respecto a la cuantificación del pH intracelular con la RNM parecen prometedoras aunque en la

actualidad sólo se ha practicado en pequeños animales y por otra parte, éste método no es utilizable en la sala de operaciones (274).

La medida del pH extracelular miocárdico se ha efectuado en el epicardio utilizando electrodos de superficie y en el miocardio con electrodos de clavija (275) (276) (277). Los electrodos de superficie se han abandonado debido a la dificultad en su reproductibilidad, a los errores cometidos en la medida, y a la mayor vulnerabilidad de las membranas celulares.

La medida del pH intramiocárdico se ha efectuado con tres tipos de electrodos: electrodos de cristal como el empleado por nosotros, electrodos polímeros de membranas, y electrodos de fibra óptica. Exceptuando los electrodos de cristal, el resto no ha sido utilizado en la clínica (278) (279) (280) (281) (282) (283) (284) (285). La línea base del pH miocárdico en el perro anestesiado y con el tórax abierto, osciló entre 7.12 ± 0.09 .

En un Symposium sobre protección miocárdica celebrado en Brighan en Febrero de 1989, se concluía que si el pH miocárdico es un método fiable para medir la lesión isquémica se debería trabajar en el desarrollo de métodos que fueran aplicables en el laboratorio de cirugía experimental y en la sala de operaciones. A esta conclusión se llegaba seis años después del inicio de este trabajo en el Laboratorio de cirugía experimental en la Clínica Puerta de Hierro.

Estudios efectuados por Walters (286) utilizando diferentes electrodos de cristal, comprueba que el descenso del pH durante la parada isquémica normotérmica corre paralelo al incremento el CO_2 que había medido previamente con un espectrómetro de masas. Por otro lado Lange (287) examinó ultraestructuralmente el miocardio próximo al lugar donde se encontraba el electrodo y comprobó que existía una correlación entre el grado de lesión isquémica y el descenso del pH, pero no cuantificó al grado de severidad del proceso isquémico encontrado.

Para tratar de correlacionar la severidad de la lesión miocárdica y el pH, monitorizamos el pH miocárdico durante el tiempo que duró la isquemia y analizamos parámetros metabólicos (fosfatos de alta energía ATP y CP) mediante la toma de biopsias endomiocárdicas, control (antes del inicio de la isquemia) y a los 60, 120 y 180 minutos e isquemia, y biopsia para estudios ultraestructurales que se efectuaron cada 30 minutos durante el periodo que duró la isquemia, encontrando que existían en las muestras analizadas al menos un 50% de lesiones severas cuando el pH bajaba de los límites de 5.8 ± 0.2 . Estos límites del pH también se correspondían cuando la deplección de los fosfatos de alta energía bajaban de $79\% \pm 7$ para el ATP y de $41\% \pm 6$ para el CP (288) (291).

El pH encontrado lo comparamos con el grado de contractura intramiocárdica comprobando que un pH de 5.8 ± 0.2 se

correspondía con un grado de contractura superior a $35\% \pm 6$. Considerando como valores 0% el encontrado en el inicio de la isquemia post-cardioplejia y 100% a los 180 minutos de isquemia hipotérmica.

Si observamos las curvas del pH se puede apreciar que a pesar de la hipotermia y de la infusión de cardioplejia el pH en todos los casos tiende a descender lo que indica que la acidosis tisular no está totalmente prevenida. Por otro lado a pesar de que algunas soluciones cardioplégicas conseguían mantener el pH por encima de la zona teórica de reversibilidad de la lesión celular miocárdica, siempre se apreciaba cierto grado de injuria miocárdica que en algunos casos llegaba incluso a moderada (292) (293).

Es conocido desde hace tiempo la relación existente entre el pH y la temperatura. La ecuación de Henderson-Hasselbach demuestra que el pH de un sistema ácido-base guarda relación directa con la constante de disociación pK. Desde que el pK del agua aumenta con el descenso de la temperatura, el pH del agua y consecuentemente el pH intracelular está en relación inversa con la temperatura. Siendo esto cierto en los sistemas inertes y aunque se cumple en las primeras fases de la isquemia quirúrgica, esta interpretación no es posible en los estadios finales ya que podríamos conseguir mantener un pH constante con una temperatura constante, pero el proceso de lesión tisular producido por la isquemia es progresivo como se demuestra en este trabajo a pesar de mantener la temperatura constante.

Como conclusión de este apartado podríamos decir que la monitorización del pH intramiocárdico puede ser el mejor método a nuestro alcance en la actualidad, tanto desde el punto de vista experimental, como clínico para valorar el grado de injuria miocárdica producida por la isquemia quirúrgica (294) (295).

Debería emplearse de forma rutinaria para comprender mejor la fisiopatología de la injuria cardiaca producida durante el bypass cardio-pulmonar. Es el método más efectivo para valorar y comparar diferentes métodos de protección miocárdica.

CALCIO

La efectividad de los componentes químicos de la cardioplejia, consiste en conseguir un estrecho control sobre los movimientos de calcio y el mantenimiento intracelular de este ión durante la parada en diástole. Es conocido que para la integridad y funcionamiento de las capas bilipídicas y glucolípida de la membrana celular es imprescindible la presencia de calcio (296) (297) (298). La eliminación del calcio por el lavado de las soluciones libres de calcio puede producir un deterioro en las capas glucolípidas y movimientos del ácido sialico residual produciéndose un dramático aumento de la permeabilidad para el calcio durante la reperfusión.

El contenido óptimo de calcio de las soluciones

cardiopléjicas se ha investigado por varios autores. Se considera que con un 0.50 mmol/l es suficiente para mantener la estructura de la membrana y permeabilidad del potasio y del calcio. Se admite que una dosis de calcio entre 0.5 y .5 mmol/l es capaz de prevenir las alteraciones de las membranas que puedan producir una entrada masiva de calcio y producir un síndrome del "calcio paradójico" (299) (301).

POTASIO

El potasio es el agente despolarizante más usado como agente cardiopléjico. La concentración óptima varía según las distintas soluciones y oscila entre 5 y 35 ml Eg/l. (302) (303) (304) (305) (306). En ocasiones se han empleado dosis de potasio más altas, aunque en realidad se piensa que no aportan nada nuevo y tienen el inconveniente de aumentar la osmolaridad de la solución. En la actualidad se piensa que el potasio óptimo es el que es capaz de producir una parada rápida y efectiva en diástole y que además evita la aparición de microfibrilación. Esta dosis óptima se estima entre 15 y 25 mmol/l (307).

MAGNESIO

El magnesio y el potasio son los dos cationes intracelulares más abundantes. El magnesio forma complejos con el ATP para actuar como substratos en las reacciones enzimáticas que intervienen en el aparato de la contracción y de la relajación,

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

1.- La monitorización continua del Ph miocárdico durante el periodo de isquemia cardiaca quirúrgica, ha demostrado ser un método eficaz para valorar el grado de lesión celular producida por la parada cardiaca anóxica, así como para cuantificar la eficacia de la protección miocárdica producida por las diferentes soluciones cardioplejicas.

2.- Mediante la monitorización continua del pH y estudio evolutivo y seriado de las lesiones histopatológicas producidas durante la isquemia miocárdica quirúrgica se ha demostrado que la "banda" de irreversibilidad en la célula miocárdica del perro se corresponde cuando el pH desciende de 5.8 ± 0.2

3.- La monitorización continua del grado de contractura miocárdica medida mediante la presión intramiocárdica también ha demostrado ser un método eficaz para valorar el grado de lesión celular durante la isquemia cardiaca quirúrgica. Comparado el grado de contractura muscular con la severidad de la lesión celular encontrada en los estudios histopatológicos se ha demostrado que la "banda" de irreversibilidad se encuentra cuando el grado de contracción alcanza o supera el $25\% \pm 6$ (considerando el 0% de la presión intramiocárdica obtenida después

de la infusión de cardioplejia a 4°C y 100% la presión miocárdica obtenida a los 180 minutos de parada cardiaca hipotérmica.

4.- Comparando la deplección de fosfatos de alta energia, Adenosin Trifosfatos (ATP) y creatin fosfato (C.P.) en el miocardio del perro durante la parada cardiaca isquemica, hemos comprobado que el porcentaje histopatologico de lesiones severas o severas irreversibles es superior al 50% cuando el porcentaje de ATP decae del 79% \pm 7y el del CP por debajo del 41% \pm 6.

5.- El recalentamiento miocardico de las diferentes áreas analizadas depende del valor de K (constante de recalentamiento) y traduce la velocidad con que se calienta el corazón. Ordenados los valores de K de mayor a menor son: Septo interventricular (proximal), Ventrículo izquierdo(proximal), ventrículo izquierdo-(distal) septo interventricular (distal), ventrículo derecho-(proximal)ventrículo izquierdo (medio), ventrículo derecho (medio).y ventrículo derecho(distal).

6.- Si representamos de una forma logaritmica los valores del pH miocardico obtenidos despues de la infusión de las diferentes soluciones cardioplejicas se comprueban que las que mas protegen al corazon son las lineas mas rectas y las que menor pendiente tienen (Grafico 7).

7.- Ordenadas de mayor a menor efecto protectivo las soluciones cardioplejicas estudiadas han sido: cardioplejia

sanguínea, cardioplejia oxigenada, cardioplejia CPH, cardioplejia St Thomas, cardiplejia Bretschneider e Hipotermia.

8.- El gasto cardiaco post-isquemia miocárdica fue estadísticamente significativo menor del $46\% \pm 4.5$ (tomando como valor 100% el gasto cardiaco previo a la circulación extracorporea con el perro anestesiado y el tórax abierto) cuando el porcentaje de lesiones histopatológicas de severidad fue superior al 50% a los 180 minutos de ischemia o en el periodo de reperfusión miocárdica.

R E S U M E N

RESUMEN

El principal problema de la isquemia miocárdica quirúrgica, es conocer "in situ" el grado de lesión miocárdica que se está produciendo y el saber a qué distancia de la "barrera" de la irreversibilidad celular nos encontramos.

Existen métodos eficaces para conocer el grado de lesión miocárdica que se produce durante la parada cardiaca isquémica inducida durante la circulación extracorporea. Estos métodos son fundamentalmente dos: de una parte están los estudios bioquímicos del miocardio que traducen las alteraciones metabólicas de la isquemia; y por otro lado están los estudios histopatológicos del corazón que traducen las lesiones morfológicas de la isquemia. Sin embargo aunque estos métodos son muy precisos, los resultados siempre los obtenemos a posteriori, o en cualquier caso una vez que ya ha finalizado la circulación extracorpórea o que el proceso isquémico de la lesión ya ha pasado la barrera de la irreversibilidad.

Durante la parada cardiaca isquémica quirúrgica se producen dos fenómenos evolutivos conocidos de antiguo y que guardan relación con el grado de lesión miocárdica. Por una parte está el hecho de la tendencia que tienen las células isquémicas a

producir acidosis por la producción continua de iones hidrógeno; y por otro lado está el grado de contracción o contractura muscular que se produce a medida que progresa la lesión miocárdica, siendo la expresión máxima de este proceso la contractura isquémica cardíaca o "stone heart".

Para llevar a la práctica estos dos conceptos, monitorizamos el pH y la contracción del miocardio mediante un peachímetro y un transductor de presión muy sensible respectivamente durante el tiempo que duró la isquemia. Al mismo tiempo se tomaron muestras biópticas del endocardio del ventrículo izquierdo para estudios bioquímicos (ATP y CP) e histopatológicos.

El propósito de este trabajo consiste en valorar estos dos parámetros (acidosis y contracción muscular) para utilizarlos en la práctica clínica como índices indirectos del grado de lesión miocárdica, y sobre todo para determinar los límites en los cuales la lesión miocárdica se aproxima a la barrera de la irreversibilidad.

De este trabajo se deduce que la barrera de la irreversibilidad celular (porcentaje superior al 50% de lesiones severas o severas-irreversibles) se produce cuando los niveles de ATP descienden por debajo de $79\% \pm 7$, y cuando el CP desciende por debajo de $41\% \pm 6$.

Cuando este porcentaje de lesión histopatológica se produce

bien durante la isquemia o durante la reperfusión, el porcentaje de gasto cardíaco postoperatorio era inferior al $46\% \pm 4.5$.

Mediante la monitorización continua del pH miocárdico, correlacionando este parámetro con estudios bioquímicos (ATP y CP) del miocardio y de las lesiones histopatológicas se demuestra que la barrera de la irreversibilidad celular se produce cuando el pH miocárdico desciende por debajo de 5.8 ± 0.2 .

Comparados los mismos parámetros bioquímicos e histopatológicos con el grado de contractura miocárdica, encontramos que la barrera de la irreversibilidad se produce cuando el porcentaje de contracción era superior al $35\% \pm 6$.

Si representamos en una gráfica logarítmica los valores del pH monitorizados durante la isquemia según las diferentes cardioplejias utilizadas, encontramos que las cardioplejias que tienen mayores efectos protectivos son las que la representación es más lineal y tiene menos pendiente (GRAFICO 7).

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Lewis, F.J., and Taufic, M.: Closure of atrial septal defects with the aid of hypothermia: Experimental accomplishments and the report of one successful case. *Surgery*, 33:52-59. (1953).
- 2.- Bigelow, W.G., Lindsay, W.K., and Greenwood, W.F.: Hypothermia: Its possible role in cardiac surgery: An investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. *Ann. Surg.*, 132:849-866. (1950).
- 3.- Bigelow, W.G., Mustard, W.T., and Evans, J.G.: Some physiologic concepts of hypothermia and their applications to cardiac surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 28:463-480. (1954).
- 4.- Bentall, H.H., and Melrose, D.G.: Elective cardiac arrest: Lactic acid production in the arrested heart. *J. Physiol.*, 135:38-39. (1957).
- 5.- Melrose, D.G.: Elective cardiac arrest: Historical perspective. In: *Modern Cardiac Surgery*, edited by D. Longmore, pp. 271-275. MTP, Lancaster. (1978).
- 6.- Melrose, D.G., Dreyer, B., Bentall, H.H., and Baker, J.B.E.: Elective cardiac arrest: preliminary communication. *Lancet*, 2:21-22. (1955).

- 7.- Gerbode, F., and Melrose, D.G.: The use of potassium arrest in open cardiac surgery. *Am. J. Surg.*, 96:221-227. (1958).
- 8.- Sealy, W.C., Brown, I.W.Jr., Young, W.G.Jr., Stephen, C.R., Harris, J.S., and Merritt, D.: Hypothermia, low-flow extracorporeal circulation and controlled cardiac arrest for open-heart surgery. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 104:441-450. (1957).
- 9.- Sealy, W.C., Brown, I.W.Jr., and Young, W.G.Jr.: A report on the use of both extracorporeal circulation and hypothermia for open-heart surgery. *Ann. Surg.*, 147:603-613. (1958).
- 10.- Helmsworth, J.A., Shabetai, R.W., Albers, J.E., and Wozencraft, P.J.: The local effect of potassium citrate solution in atrial pouches of dogs. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 36:220-226. (1958).
- 11.- Helmsworth, J.A., Kaplan, S., Clark, L.C.Jr., McAdams, A.J., Matthews, E.C., and Edwards, F.K.: Myocardial injury associated with asystole induced with potassium citrate. *Ann. Surg.*, 149:200-206. (1959).
- 12.- McFarland, J.A., Thomas, L.B., Gilbert, J.W., and Morrow, A.G.: Myocardial necrosis following elective cardiac arrest induced with potassium citrate. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 40:200-208. (1960).

- 13.- Buckberg, G.D., Fixler, D.E., Archie, J.P., and Hoffman, J.I.E.: Experimental sub-endocardial ischemia in dogs with normal coronary arteries. *Circ. Res.*, 30:67-81. (1972).
- 14.- Buckberg, G.D., Towers, B., Paglia, D.E., Mulder, D.G., and Maloney, J.V.Jr: Sub-endocardial ischemia after cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 64:669-684. (1972).
- 15.- Ghidoni, J.J., and Liotta, D.: Massive subendocardial damage accompanying prolonged ventricular fibrillation. *Am. J. Pathol.*, 52:21a-22a. (1968).
- 16.- Isom, O.W., Kutin, N.D., Flak, E.A., and Spencer, F.C.: Patterns of myocardial metabolism during cardiopulmonary bypass and coronary perfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 66:705-719. (1973).
- 17.- Morales, A.R., Fine, G., and Taber, R.E.: Cardiac surgery and myocardial necrosis. *Arch. Pathol.*, 83:71-79. (1967).
- 18.- Najafi, H., Henson, D., Dye, W.S., Javid, H., Hunter, J.A., Callaghan, R., and Julian, O.C.: Left ventricular hemorrhagic necrosis. *Ann. Thorac. Surg.*, 7:550-561. (1969).
- 19.- Najafi, H., Lal, R., Khalili, M., Serry, C., Rogers, A., and Haklin, M.: Left ventricular hemorrhagic necrosis.

Experimental production and pathogenesis. Ann. Thorac. Surg., 12:400-410. (1971).

20.- Shumway, N.E., and Lower, R.R.: Topical cardiac hypothermia for extended periods of anoxic arrest. Surg. Forum, 10:563-566. (1960).

21.- Shumway, N.E., Lower, R.R., and Stofer, R.C.: Selective hypothermia of the heart in anoxic cardiac arrest. Surg. Gynecol. Obstet., 109:750-754. (1959).

22.- Hurley, E.J., Lower, R.R., Dong, E.Jr., Pillsbury, R.C., and Shumway, N.E.: Clinical experience with local hypothermia in elective cardiac arrest. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 47:50-65. (1964).

23.- Bernhard, W.F., Schwarz, H.F., and Mallick, N.P.: Elective hypothermic cardiac arrest in normothermic animals. Ann. Surg., 153:43-51. (1961).

24.- Tyers, G.F.O., Hughes, H.C.Jr., Todd, G.J., Williams, D.R., Andrews, E.J., Prophet, G.A., and Waldhausen, J.A.: Protection from ischemic cardiac arrest by coronary perfusion with cold Ringer's lactate solution. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 67:411-418. (1974).

- 25.- Bloodwell, R.D., Kidd, J.N., Hallman, G.L., Burdette, W.J., McMurtrey, M.J., and Cooley, D.A.: Cardiac valve replacement without coronary perfusion: Clinical and laboratory observations. In: Prosthetic Heart Valves, edited by L.A. Brewer, pp.397-409. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois. (1969).
- 26.- Messmer, B.J., Hallman, G.L., Liotta, D., Martin, C., and Cooley, D.A.: Aortic valve replacement: New techniques, hydrodynamics and clinical results. Surgery, 68:1026-1037. (1970).
- 27.- Cooley, D.A., Reul, G.J., and Wukasch, D.C.: Ischemic contracture of the heart: "Stone heart". Am. J. Cardiol., 29:575-577. (1972).
- 28.- Hölscher, B., Just, O.H., and Merker, H.J.: Studies by electron microscope on various forms of induced cardiac arrest in dog and rabbit. surgery, 49:492-499. (1961).
- 29.- Bonhoeffer, K., Standfuss, K., and Spieckermann, P.G.: Der Sauerstoffverbrauch des Hundherzens nach Kardioplegie durch extrazellulären Natriumentzug und Novocainapplikation. Pfluegers Arch. Ges. Physiol., 281:19. (1964).
- 30.- Bretschneider, H.J.: Überlebenszeit und Wiederbelebungszeit des Herzens bei Normo-und Hypothermie. Verh. Dtsch. Ges.

Kreislaufforsch., 30:11-34. (1964).

- 31.- Bretschneider, H.J., Hübner, G., Knoll, D., Lohr, B., Nordbeck, H., and Spieckermann, P.G.: Myocardial resistance and tolerance to ischemia: Physiological and biochemical basis. J. Cardiovasc. Surg. (Torino), 16:241-260. (1975).
- 32.- Kirsch, U.: Untersuchungen zum Eintritt der Totenstarre an ischaemischen Meer-schweinchenherzen in Normothermie. Der Einfluss von Procain, Kalium und Magnesium. Arzneim. Forsch., 20:1071-1074. (1970).
- 33.- Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: Cellular protection during myocardial ischemia: The development and characterization of a procedure for the induction of reversible ischemic arrest. Circulation, 54:193-202. (1976).
- 34.- Roe, B.B., Hutchinson, J.C., Fishman, N.H., Ulliyot, D.J., and Smith, D.L.: Myocardial protection with cold, ischemic potassium-induced cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 73:366-370. (1977).
- 35.- Tyers, G.F.O., Manley, N.J., Williams, E.H., Shaffer, C.W., Williams, D.R., and Kurusz, M.: Preliminary clinical experience with isotonic hypothermic potassium-induced arrest. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 74:674-681. (1977).

- 36.- Jennings, R.B.: Early phase of myocardial ischemic injury and infarction. *Am. J. Cardiol.*, 24:753-765. (1969).
- 37.- Jennings, R.B., and Ganote, c.E.: Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circ. Res.* 34/35 (Suppl. 3):156-172. (1974).
- 38.- Steenbergen, C., Deleeuw, G., and Williamson, J.R.: Analysis of control of glycolysis in ischemic hearts having heterogeneous zones of anoxia. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 10:617-639. (1978).
- 39.- Opie, L.H.: Effects of regional ischemia on metabolism of glucose and fatty acids. Relative rates of aerobic and anaerobic energy production during myocardial infarction and comparison with effects of anoxia. *Circ. Res.* 38(Suppl. 1):52-74. (1976).
- 40.- Sonnenbilck, E.H., and Kirk, K.B.: Effects of hypoxia and ischemia on myocardial contraction. Alterations in the time course of force and ischemia-dependent inhomogeneity of contractility. *Cardiology*, 56:302-313. (1976).
- 41.- Katz, A.M.: Effects of ischemia on the contractile processes of heart muscle. *Am. J. Cardiol.*, 32:456-460. (1973).
- 42.- Hearse, D.J.: Oxygen deprivation and early contractile failure: reassessment of the possible role of ATP. *Am. J.*

Cardiol., 44:1115-1121. (1979).

- 43.- Hillis, L.D., and Braunwald, E.: Myocardial ischemia. N. Engl. J. Med. 296:971-978, 1034-1041, 1093-1096. (1977).
- 44.- Williamson, J.R. Schaffer, S.W., Ford, C., and Safer, B.: Contribution of tissue acidosis to ischemic injury in the perfused rat heart. Circulation 53(Suppl. 1):3-14. (1976).
- 45.- Neely, J.R., and Morgan, H.E.,: Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. Ann. Rev. Physiol. 36:413-459. (1974).
- 46.- Crass, M.F., Shipp, J.C., and Pieper, G.M.: Effects of catecholamines on myocardial endogenous substrates and contractility. Am. J. Physiol., 223:618-627. (1975).
- 47.- Rovetto, M.J., Whitmer, J.T., and Neely, J.R.: Comparison of the effects of anoxia and whole heart ischemia on carbohydrate utilization in isolated working rat hearts. Circ. Res., 32:699-711. (1973).
- 48.- Dobson, J.G., and Mayer, S.E.: Mechanisms of activation of cardiac glycogen phosphorylase in ischemia and anoxia. Circ. Res., 33:412-420. (1973).

- 49.- Opie, L.H., Owen, P., Thomas, M., and Samson, R.: Coronary Sinus lactate measurements in assessment of myocardial ischemia. *Am. J. Cardiol.*, 32:295-305. (1973).
- 50.- Neely, J.R., Whitmer, J.T., and Rovetto, M.J.: Effect of coronary blood flow on glycolytic flux and intracellular pH in isolated rat hearts. *Circ. Res.*, 37:733-741. (1975).
- 51.- Rovetto, M.J., Lamberton, W.F., and Neely, J.R.: Mechanisms of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. *Circ. Res.*, 47:742-751. (1975).
- 52.- Weglicki, W.B., Owens, K., Ruth, R.C., and Sonnenblick, E.H.: Activity of endogenous myocardial lipases during incubation at acid pH. *Cardiovasc. Res.*, 8:237-242.
- 53.- Leaf, A.: Cell swelling, a factor in ischemic tissue injury. *Circulation*, 48:455-458. (1973).
- 54.- Coraboeuf, E., Deroubaix, E., and Hoerter, J.: Control of ionic permeabilities in normal and ischemia hearts. *Circ. Res.* 38(Suppl. 1):92-98. (1976).
- 55.- Shen, A.C., and Jennings, R.B.: Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am. J. Pathol.*, 67:417-440. (1972).

- 56.- Hearse, D.J., and Chain, E.B.: The role of glucose in the survival and "recovery" of the anoxic isolated perfused rat heart. *J. Biochem.*, 128:1125-1133. (1972).
- 57.- Hearse, D.J., Garlick, P.B., and Humphrey, S.M.: Ischemic structure of the myocardium: mechanisms and prevention. *Am. J. Cardiol.*, 39:986-993. (1977).
- 58.- Kurien, V.A., and Oliver, M.F.: A metabolic cause for arrhythmias during acute myocardial hypoxia. *Lancet*, 1:813-815. (1970).
- 59.- Opie, L.H., and Lubbe, E.F.: Are free fatty acids arrhythmogenic. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 7:155-159. (1975).
- 60.- Sonnenblick, E.H., and Kirk, K.B.: Effects of hypoxia and ischemia on myocardial contraction. Alterations in the time course of force and ischemia-dependent inhomogeneity of contractility. *Cardiology*, 56:302-313. (1976).
- 61.- Sobel, B.E., Roberts, R., and Larson, K.B.: Considerations in the use of biochemical markers of ischemic injury. *Circ. Res.* 38(Suppl.1):99-108. (1976).
- 62.- Lochner, A., Opie, L.H., Owen, P., Kotze, J.C.N., Bruyneel, K., and Gevers, W.: Oxidative phosphorylation in infarcting baboon and dog myocardium: effects of mitochondrial

isolation and incubation media. J. Mol. Cell. Cardiol., 7:203-217. (1975).

- 63.- Katz, A.M., and Tada, M.: The "stone heart" and other challenges to the biochemist. Am. J. Cardiol., 39:1073-1077.(1977).
- 64.- Shrage, E., Shug, A.L., Sul, H., Bittar, N., and Folts, J.D.: Control of energy production in myocardial ischemia. Circ. Res., 38:(Suppl.1): 75-79. (1976).
- 65.- Jennings, R.B., and Ganote, C.E.: Mitochondrial structure and function in acute myocardial ischemic injury. Circ Res. 38:(Suppl.1):89-91. (1976).
- 66.- Bing, O.H.L., Keefe, J.F., Wolk, M.J., Finkelstein, L.J., and Levine, H.J.: Tension prolongation during recovery from myocardial hypoxia. J. Clin. Invest., 50:660-666. (1971).
- 67.- Ganote, C.E., Seabra-Gomes, R., Nayler, W.G., and Jennings, R.B.: Irreversible myocardial injury in anoxic perfused rat hearts. Am. J. Pathol., 80:419-450. (1975).
- 68.- Hearse, D.J., Humphrey, S.M., and Chain, E.B.: Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. J. Mol. Cell. Cardiol., 5:395-407. (1973).

- 69.- Jennings, R.B., Sommers, H.M., Smyth, G.A., Flack, H.A., and Linn, H.: Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *A.M.A. Arch. Pathol.*, 70:68-78. (1960).
- 70.- Danforth, W.H., Naegle, S., and Bing, R.J.: Effect of ischemia and reoxygenation on glycolytic reactions and adenosine triphosphate in heart muscle. *Circ. Res.*, 8:965-971. (1960).
- 71.- Fox, A.C., Hoffstein, S., and Wissmann, G.: Lysosomal mechanisms in production of tissue damage during myocardial ischemia and the effects of treatment with steroids. *Am. Heart J.*, 91:394-397. (1976).
- 72.- Hoffstein, S., Weissmann, G., and Fox, A.C.: Lysosomes in myocardial infarction: studies by means of cytochemistry and subcellular fractionation, with observations on the effects of methylprednisolone. *Circulation*, 53(Suppl.1):34-40. (1976).
- 73.- Bing, O.H.L., Brooks, W.W., and Messer, J.V.: Prolongation of tension on reoxygenation following myocardial hypoxia: a possible role for mitochondria in muscle relaxation. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 8:205-215. (1976).

- 74.- Brooks, W.W., Sturckow, B., and Bing, O.H.L.: Myocardial hypoxia and reoxygenation: electrophysiologic and mechanical correlates. *Am. J. Physiol.*, 226:523-527. (1974).
- 75.- Trautwein, W., and Dudel, J.: Aktionspotential und Kontraktion des Herzmuskels im Sauerstoffmangel. *Pflügers. Arch.* 263:23-32. (1956).
- 76.- Zimmerman, A.N.E., and Hulsmann, W.C.: Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the cell membranes of the isolated rat heart. *Nature*, 211:646-647. (1966).
- 77.- Zimmerman, A.N.E., Daems, W., Hulsmann, W.C., Snijder, J., Wisse, E., and Durrer, D.: Morphological changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (calcium paradox). *Cardiovasc. Res.*, 1:201-209. (1967).
- 78.- Fleckenstein, A., Janke, J., Döring, H.J., and Pachinger, O.: Ca overload as the determinant factor in the production of catecholamine-induced myocardial lesions. In: *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Volume 2: Cardiomyopathies*. Edited by E. Bajusz and G. Rona, with A.J. Brink and A. Lochner. Lancaster, MTP, pp. 455-466. (1973).

- 79.- Fleckenstein, A. Janke, J., Doring, H.J., and Leder, O.: Myocardial fibernecrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. In: Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Volume 2: Myocardial Biology. Edited by N.S. Dhalla. Baltimore, University Park Press, pp. 566-580. (1974).
- 80.- Dhalla, N.S.: Involvement of membrane systems in heart failure due to intracellular calcium overload and deficiency. J. Mol. Cell. Cardiol., 8:661-667. (1976).
- 81.- Kane, J.J., Murphy, M.L., Bissett, J.K., deSoyza, N., Doherty, J.E., and Straub, K.D.: Mitochondrial function, oxygen extraction, epicardial ST-segment changes and tritiated digoxin distribution after reperfusion of ischemic myocardium. Am. J. Cardiol., 36:218-224. (1975).
- 82.- Parr, D.R., Wimhurst, J.M., and Harris, E.J.: Calcium-induced damage of rat heart mitochondria. Cardiovasc. Res., 9:366-372. (1975).
- 83.- Whalen, D.A., Hamilton, D.G., Ganote, C.E., and Jennings, R.B.: Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. I. Effects on cell volume regulation. Am. J. Pathol., 74:381-397. (1974).

- 84.- Schaper, J., Hehrlein, F., Thiedemann, K.U., and Schlepper, M.: Ultrastructure of human myocardium after total cardiopulmonary bypass during open-heart surgery. In: Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Volume 6: Pathophysiology and Morphology of Miocardial Cell Alterations. Edited by A. Fleckenstein and G. Rona. Baltimore, University Park Press, pp. 399-404. (1975).
- 85.- Hearse, D.J., Humphrey, S.M., Nayler, W.G., Slade, A., and Border, D.: Ultrastructural damage associated with reoxygenation fo the anoxic myocardium. J. Mol. Cell. Cardiol., 7:315-324. (1975).
- 86.- Carafoli, E., Rossi, C.S., and Lehninger, A.L.: Uptake of adenine nucleotides by respiring mitochondria during active accumulation of Ca^{++} and phosphate. J. Biol. Chem., 240:2254-2261. (1965).
- 87.- Lehninger, A.L., Carafoli, E., and Rossi, C.S.: Energy-linked ion movements in mitochondrial systems. Adv. Enzymol., 29:259-230. (1967).
- 88.- Bate-Smith, E.C., Bendall, J.R.: Rigor mortis and adenosine triphosphate. J. Physiol, 106:177-185. (1947).
- 89.- Henson, D.E., Najafi, H., Callaghan, R., et al: Myocardial lesions following open heart surgery. Arch Path, 88:423-

430. (1969).

- 90.- Lundsgaard-Hansen, P.: Surgical aspects of cardiac metabolism. Surg Gynec Obstet, 122:1095-1108. (1966).
- 91.- Embry, R., Briggs, A.H.: Factors affecting contraction and relaxation in dog glycerinated cardiac fibers. Amer J. Physiol, 210:826-830. (1966).
- 92.- Bozler, E.: Control of the contractile mechanism of smooth and cardiac muscle. Amer J. Physiol, 215:509-512. (1968).
- 93.- Murphy, R.A.: Correlations of ATP content with mechanical properties of metabolically inhibited muscle. Amer J. Physiol, 211:1082-1088. (1966).
- 94.- Endo, M.: The superprecipitation of actomysin and its ATPase activity in low concentration of ATP. J. Biochem, 55:614-622. (1964).
- 95.- Waldhausen, J.A. Braunwald, N.S., Bloodwell, R.D.: Left ventricular function following elective cardiac arrest. J. Thorac Cardiovasc Surg., 39:813. (1960).
- 96.- Kirsch, U., Rodewald, G., and Kalmar, P.: Induced ischemic arrest. J. Thorac, Cardiovasc. Surg., 63:121. (1972).

- 97.- Gay, W.A., Jr., and Ebert, P.A.: Functional, metabolic, and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery*, 74:284-295. (1973).
- 98.- Tyers, G.F.O., Todd, G.J., Niebauer, I.M., Manley, N.H. and Waldhausen, J.A.: The mechanism of myocardial damage following potassium citrate (Melrose) cardioplegia. *Surgery*, 78:45. (1975).
- 99.- Catinella, F.P., Cunningham, J.N. Adams. P.X., Snively, S.L., Gross, R.I., and Spencer, F.C.: Myocardial protection with cold blood potassium cardioplegia during prolonged aortic cross-clamping. *Ann. Thorac. Surg.*, 33:228-233. (1982).
- 100.- Catinella, F.P., Cunningham, J.N., Jr., and Spencer, F.C.: Myocardial protection during prolonged aortic cross-clamping. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 88:422-423. (1984).
- 101.- Peyton, R.B., Van Trigt, P., Pellom, G.L., Jones, R.N., Sink J.D., and Wechsler, A.S.: Improved tolerance to ischemia in hypertrophied myocardium by preischemic enhancement of adenosine triphosphate. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 84:11-15. (1982).
- 102.- Johnson, R.E., Lynne, M.D., Moye, S.J., Hateher, C.R., Gayton, R.A.: Cardioplegic infusion the safe limits of

- pressure and temperature. J. Thorac. Cardiovasc, Surg., 83:813-823. (1982).
- 103.- Buckberg, G.D.: A proposed "solution" to the cardioplegic controversy. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 77:803-815. (1979).
- 104.- Langer, G.A.: Control of calcium movement in the myocardium. Eur. Heart J. 4(Suppl.II):II-5-11. (1983).
- 105.- Yamamoto, F., Manning, A.S., Braimbridge, M.V., and Hearse, D.J.: Cardioplegia and slow calcium channel blockers. Studies with verapamil. J. Thorac, Cardiovasc. Surg., 86:252-261. (1983).
- 106.- Clark, R.E., Cristlieb, I.V., Henry, P.D., Fisher, A.E., Nora, J.D., Williamson, J.R., Sobel, Be. E.: Nifedipine: a myocardial protective agent. Am. J. Cardiol, 44:825-831. (1979).
- 107.- Standeven, J.W., Jellinek, J., Menz, L.J., Kolata, R.J., and Barner, H.B.: Cold blood potassium diltiazem cardioplegia. J. Thorac Cardiovasc. Surg., 87:201-212. (1984).
- 108.- Steward, J.R., Blackwell, W.H., Crute, S.L., Loughlin, V. Greenfield, L.J., and Hess, H.L.: Inhibition of surgically induced ischemia/ reperfusion injury by oxygen free radical

scavengers. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 86:262-272. (1983).

- 109.- Okamoto, F., Allen, B.S., Buckberg, G.D., Vinten-Johansen, J., Rosenkranz, E.R., and Bugyi, H.I.: Enhancement of myocardial salvage by intravenous co-enzyme Q₁₀ before surgical reperfusion with substrate enriched blood cardioplegia. Surg. Forum, 36:258. (1985).
- 110.- McCord, J.M.: Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. N. Engl. J. Med., 312:159-163. (1985).
- 111.- Foglia, R.P., Steed, D.L., Follette, D.M., DeLand, E.C., and Buckberg, G.D.: Iatrogenic myocardial edema with potassium cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Sur., 78:217-222. (1979).
- 112.- Roberts, A.J., Moran, J.M., Sanders, J.H., Spies, S.M., Lichtenthal, P.R. Kaplan, K.J., and Michaelis, L.L.: Clinical evaluation of the relative effectiveness of multidose crystalloid and cold blood potassium cardioplegia in coronary artery bypass graft surgery. Ann. Thorac. Surg., 33:421-433. (1982).
- 113.- Fabiani, J.N., Perier, P., Chelly, J., Camilleri, J.P., Carpentier, A. and Dubost, Co.: Blood versus crystalloid cardioplegia. In A Textbook of Clinical Cardioplegia Edited

by R.M. Engelman and S. Levitsky. Mt. Kisco, New York. Futura Publishing, pp.285-295. (1982).

- 114.- Follette, D.M., Mulder, D.G., Maloney, J.V., Jr., and Buckberg, G.D.: Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion and intermittent ischemia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 76:604-617. (1978).
- 115.- Novick, R.J., Stefaniszyn, H.J., Michel, R.P., Burdon, F.D., and Salerno, T.A.A.: Protection of the hypertrophied pig myocardium. A comparison of crystalloid, blood, and fluosol-DA cardioplegia during prolonged aortic clamping. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 89:547-566. (1985).
- 116.- Bodenhamer, R.M. DeBoer, L.W.V., Geffing, G.A., O'Keefe, D.D., Fallon, J.T., Aretz, T.H., Haas, G.S., and Daggett, W.M.: Enhanced myocardial protection during ischemic arrest. Oxygenation of a crystalloid cardioplegic solution. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 85:769-780. (1983).
- 117.- Follette, D.M., Fey, K.H. Steed, D.L., Foglia, R.P., and Buckberg, G.D.: Reducing reperfusion injury with hypocalcemic, hyperkalemic, alkalotic blood during reoxygenation. Surg. Form, 29:284. (1978).
- 118.- Follette, D., Fey, K., and Becker, H.: Superiority of blood cardioplegia over asanguineous cardioplegia: experimental

and clinical study. Circulation 59/60 (Suppl.II):II-3
(1979).

6

- 119.- Rosenkranz, E.R., Vinten-Johansen, J., Buckberg, G.D., Okamoto, F., Edwards, H., and Bugyi, H.: Benefits of normothermic induction of cardioplegia in energy-depleted hearts, with maintenance of arrest by multidose cold blood cardioplegic infusions. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 84:667-676. (1982).
- 120.- Rosenkranz, E.R., Okamoto, F., Buckberg, G.D., Vinten-Johansen, J., Robertson, J.M., and Bugyi, H.I.: The safety of prolonged aortic clamping with blood cardioplegia. II. Glutamate enrichment in energy-depleted hearts. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 88:402-410. (1984).
- 121.- Brazier, J., Hottenrott, D., and Buckberg, G.D.: Noncoronary collateral myocardial blood flow. Ann. Thorac. Surg., 19:425-435. (1975).
- 122.- Nelson, R., Fey, K., Follette, D.M., Livesay, J.J., DeLand, E.C., Maloney, J.V., Jr., and Buckberg, G.D.: The critical importance of intermittent infusion of cardioplegic solution during aortic cross-clamping. Surg. Forum, 26:241-243. (1976).

- 123.- Ferguson, T.B., Smith, P.K., Buhrman, W.C., Lofland, G.K., and Cox, J.L.: Studies on the physiology of the conduction system during hypothermic cardioplegic arrest. Surg. Forum, 34:302-304. (1983).
- 124.- Hilton, C.J., Teubl, W., Acker, M., McEnany, and M.T.: Inadequate cardioplegic protection with obstructed coronary arteries. Ann. Thorac. Surg., 28:323. (1979).
- 125.- Becker, H., Vinten-Johansen, J., Buckberg, G.D., Follette, D.M., and Robertson, J.M.: Critical importance of ensuring cardioplegic delivery with coronary stenoses. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 81:407-415. (1981).
- 126.- Weisel, R.D., Hoy, F.B.Y., Baird, R.J., Burns, R.J., Mickle, D.A.G., Ivanov, J., Makonik, M.M., and McLaughlin, P.R.: Improved myocardial protection during a prolonged cross-clamp period. Ann. Thorac. Surg., 36:664. (1983).
- 127.- Menasche, P., Kural, S., Fauchet, M., Lavergne A., Commin, P., Bercot, M., Touchot, B., Georgiopoulos, G. and Piwnica, A.: Retrograde coronary sinus perfusion: a safe alternative for ensuring cardioplegic delivery in aortic valve surgery. Ann. Thorac. Surg., 34:647-658. (1982).
- 128.- Fabiani, J.M., and Carpentier, A.F.: Comparative evaluation of retrograde cardioplegia through the coronary sinus and

the right atrium. *Circulation* 68 (Suppl.II):III-251. (1983).

129.- Blumgart, H.L., Gilligan, D.R., and Schlesinger, M.J.: Experimental studies on the effect of temporary occlusion of coronary arteries. II. The production of myocardial infarction. *Am. Heart J.*, 22:374. (1941).

130.- Kloner, R.A., Ellis, S.G., Lang, R., and Braunwald, E.: Studies of experimental coronary artery reperfusion; effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation* 68 (Suppl.I):I-8-15. (1983).

131.- Teoh, K.H., Christakis, G.T., Fremes, S.E., Mickle, D.A.G., Romaschin, A.D., Harding, R.S., Madonik, M.M., Ivanov, J., and Weisel, R.D.: Accelerated myocardial metabolic recovery with terminal warm blood cardioplegia (hot shot). *Surg. Forum*, 36:272-275. (1985).

132.- Kane, J.J., Murphy, M.L., Bissett, J.K., deSoyza, N., Doherty, J.E., and Straub, K.D.: Mitochondrial function, oxygen extraction, epicardial S-T segment changes and tritiated digoxin distribution after reperfusion of ischemic myocardium. *Am. J. Cardiol.*, 36:218. (1975).

133.- Lazar, H.L., Buckberg, G.D., Manganaro, A.J., Becker, H., and Maloney, J.V., Jr.: Reversal of ischemic damage with

amino acid substrate enhancement during reperfusion. Surgery, 88:702-709. (1980).

- 134.- Lazar, H.L., Buckberg, G.D., Manganaro, A.M., and Becker, H.: Myocardial energy replenishment and reversal of ischemic damage by substrate enhancement of secondary blood cardioplegia with amino acids during reperfusion. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 80:350-359. (1980).
- 135.- Robicsek, F.: Biochemical termination of sustained fibrillation occurring after artificially induced ischemic arrest. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 87:143-145. (1984).
- 136.- Martin, J.: Philos. Trans. Roy. Soc., 174:663-688. (1983).
- 137.- Cyon, E.V., Berdson, Gesd Wiss.: Math. Phys. K.L.:256-306. (1886).
- 138.- Langendorff, O., and Nawrocki, C.: Pflügers. Arch., 66:355-400. (1897).
- 139.- Mattiazzi, A., and Nilsson, E.: The influence of temperature on the time course of the mechanical activity in rabbit papillary muscle. Acta. Physiol. Scand., 97:310-318. (1967).

- 140.- Martin, D.F., Downes, G.L., and Belzer, F.O.: Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase System. *Ann. Surg.*, 175:111-117. (1972).
- 141.- Barcroft, J.: Features in the Architecture of Physiological Function. Cambridge, England, University Press, p.368. (1934).
- 142.- Rosenthal, T.B.: The effect of temperature on the pH of blood and plasma in vitro. *J. Biol. Chem.*, 173:25. (1948).
- 143.- Somero, G.N.: pH temperature interactions on proteins: principles of optimal pH and buffer system design. *Mar. Biol. Lett.*, 2:168-178. (1981).
- 144.- Reeves, R.B.: The interaction of body temperature and acid-base balance in ectothermic vertebrates. *Ann. Rev. Physiol.*, 39:559-586. (1977).
- 145.- Bigelow, W.G.: The role of hypothermia in the past, present and future management of heart disease. *Circulation* 57/58 (Suppl.II):3-4. (1978).
- 146.- MacKnight, A.C. and Leaf, A.: Regulation of cellular volume. *Physiol. Rev.*, 57:510-573. (1977).

- 147.- Levitsky, S. and Feinberg, H.: Biochemical changes in ischemia. *Ann. Thorac. Surg.* 20:21-29. (1975).
- 148.- Flaherty, J.T., Schaff, H. V., Goldman, R.A. and Gott, V.L.: Metabolic and functional effects of progressive degrees of hypothermia during global ischemia. *Am. J. Physiol.*, 236:H839-H845. (1979).
- 149.- Gevers, W.: Generation of protons by metabolic processes in heart cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 9:867-873. (1977).
- 150.- McCallister, L.P., Munger, B.L., Tyers, G.F.O., and Hughes, H.C.: The effect of different methods of protecting the myocardium on lysosomal activation and acid phosphatase activity in the dog heart after one hour of cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 29:644-663. (1975).
- 151.- Hearse. D.J., Steward, D.A., and Braimbridge, M.V.: Myocardial protection during ischemic cardiac arrest: importance of magnesium in cardioplegic infusates. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 75:877. (1978).
- 152.- Mundth, E.D., Goel, I.P. Morgan, R.J., et al.: Effect on potassium cardioplegia and hypothermia on left ventricular function in hyper- trophied and nonhyptertrophied hearts. *Surg. Forum*, 24:257. (1973).

- 153.- Chapman, D.: Phase transition and fluidity characteristics of lipids and cell membranes. *Q. Rev. Biophys.*, 8:185-235. (1975).
- 154.- Albery, W.J., and Lloyd, B.B.: Variation of chemical potential with temperature. In *Development of the Lung*. Edited by A.V.S. de Reuck and R. Porter. London, J & A Churchill, Ltd., p.30. (1967).
- 155.- Reeves, R.B.: An imidazole alphastat hypothesis for vertebrate acid-base regulation. Tissue carbon dioxide content and body temperature in bullfrogs. *Respir. Physiol.*, 14:219. (1972).
- 156.- White, F.N.: A comparative physiological approach to hypothermia (editorial). *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 82:821. (1981).
- 157.- Rahn, H., and Reeves, R.B.: Protons proteins and Claude Bernard's "fixite du milieu interieur". In *Colloque Claude Bernanr* (Fondation Singer-Polignac). Edited by E.D. Robin. Paris. Masson et Cie, p.263. (1980).
- 158.- Reeves, R.B.: Temperature induced changes in blood acid-base status: pH and pCO₂ in a binary buffer. *J. Appl. Physiol.*, 40:752-761. (1976).

- 159.- Reeves, R.B.: The interaction of body temperature and acid-base balance in ectothermic vertebrates. *Ann. Rev. Physiol.*, 39:559-586. (1977).
- 160.- Severinghaus, J.W., Stupefel, M., and Bradley, A.F.: Variation of serum carbonic acid pK with pH and temperature. *J. Appl. Physiol.*, 9:197-200. (1956).
- 161.- Walters, F.J.M., Wilson, G.J., Steward, D.J., Domenech, R.J., and MacGregor, D.C.: Intramyocardial pH as an index of myocardial metabolism during cardiac surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 78:319-326. (1970).
- 162.- Hess, M.L., Williams, E.L., Robbins, A.B., Poland, J., and Greenfeld, L.J.: Subcellular function of the hypothermic myocardium. *Surg. Forum*, 34:301-302. (1984).
- 163.- Somero, G.N.: Temperature adaptation of enzymes. Biological optimization through structure-function compromises. *Ann. Rev. Ecol. System*, 9:1-3. (1978).
- 164.- Atkinson, D.E.: Cellular Energy Metabolism and Its Regulation. New York, Academic press, p.283-296. (1977).
- 165.- Hazel, J.R., and Prosser, C.L.: Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiol. Rev.*, 54:620-677. (1974).

- 166.- Poole-Wilson, P.A.: Measurement of myocardial intracellular pH in pathological states (editorial). J. Mol. Cell. Cardiol., 10:511. (1978).
- 167.- Lyman, C.P., and Hastings, B.: Total CO₂ plasma pH and pCO₂ of hamsters and ground squirrels during hibernation. Am. J. Physiol., 167:633-636. (1951).
- 168.- Becker, H., Vinten-Johansen, J., Buckberg, G.D., et al.: Myocardial damage caused by keeping pH 7.40 during systemic deep hypothermia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 82:810-817. (1981).
- 169.- Bretschneider, H.J.: The Bretschneider approach: Intracellular formulations. In Proceedings Symposium Cardioplegia: The First Quarter Century. Proc. R. Soc. London. p.78. (1980).
- 170.- Singer, S.J., and Nicolson, G.L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science, 175:720-731. (1972).
- 171.- Wodtke, E.: Discontinuities in the Arrhenius plots of mitochondrial membrane-bound enzyme systems from a poikilotherm: acclimation temperature of carp affects transition temperatures. J. Comp. Physiol., 110:145-157.

(1976).

- 172.- Hearse, D.J., Humphrey, S.M., and Bullock, G.R.: The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem: *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 10:641-668. (1978).
- 173.- Lee, B.Y., Wilson, G.J., Domenech, R.J., and MacGregor, D.C.: Relative roles of edema versus contracture in the myocardial "no-reflow" phenomenon. *J. Surg. Res.*, 29:50-61. (1980).
- 174.- Pace, N.C., and Tanford, C.: Thermodynamics of the unfolding of β -lactoglobulin A in aqueous urea solutions between 5 and 55°. *Biochemistry*, 7:198-201. (1968).
- 175.- Rosenfeldt, F.L., and Arnold, M.: Absence of myocardial damage during profound local cardiac hypothermia. In: *Proceedings Symposium Cardioplegia: The First Quarter Century*. *Proc. R. Soc. London*, pp.158-160. (1980).
- 176.- Shragge, B.W., Digerness, S.B., Blackstone, E.H.: Complete recovery of myocardial function following cold exposure. *Circulation* 56 (Suppl.II): II-97. (1978).
- 177.- Jacob, S.: Studies in organ preservation by actual freezing and reduction of the freezing point. *Cryobiology*, 1:176-179. (1964).

- 178.- Effler, D.B.: The mystique of myocardial preservation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 72:468-470. (1976).
- 179.- Speicher, C.E., Ferrigan, L., Wolfson, S.K., Yalav. E.H., and Rawson, A.J.: Cold injury of myocardium and pericardium in cardiac hypothermia. Surg. Gynecol. Obstet., 114:659-665. (1962).
- 180.- Hearse, P.J., Braimbridge, M.V., Jynge, P.: Protection of the Ischemic Myocardium: Cardioplegia. New York, Raven Press, p.196-214. (1981).
- 181.- Schachner, A., Schimert, G., Lajos, T.S., Lee, A.N., Montes, M., Chaudhry, A., Schaefer, P., Vladutin, A., and Siegel, J.H.: Selective intracavity and coronary hypothermic cardioplegia for myocardial preservation. Arch. Surg., 111:1197-1209. (1976).
- 182.- Saggau, W.W., Hatipoglu, O., Klooker, P., Mittmann, U., Steinhart, E., and Storch, H.H.: Efficiency of cardioplegia in the presence of coronary occlusion. Thorac. Cardiovasc. Surg., 28 (Suppl.1):28. (1980).
- 183.- Borst, H.G., and Iversen, S.T.: Myocardial temperature in clinical cardioplegia. Thorac. Cardiovasc. Surg. 28:29-33. (1980).

- 184.- Rosenfeldt, F.L., and Watson, D.A.: Interference with local myocardial cooling by heat gain during aortic cross clamping. *Ann. Thorac. Surg.*, 27:13-16. (1979).
- 185.- Adams, P.X., Cunningham, J.N.Jr., and Treehan, N.K.: Clinical experience using potassium-induced cardioplegia with hypothermia in aortic valve replacement. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 75:405. (1978).
- 186.- Bleese, N., Doring, C., Kalmar, P., et al: Intraoperative myocardial protection by cardioplegia in hypothermia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 75:405. (1978).
- 187.- Swanson, D.K., Dufek, J.H., and Kahn, D.R.: Improved myocardial preservation at 4°C *Ann. Thorac. Surg.*, 30:519. (1980).
- 188.- Lee, S.S., and Webb, W.R.: Metabolism of the isolated normothermic and rewarmed heart. *Surg. Forum*, 9:284. (1958).
- 189.- Balderman, S.C., Bhayana, J.N., Binette, P., Chen, A., and Gage, A.: Perioperative preservation of myocardial ultrastructure and high energy phosphates in man. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 82:860-869. (1981).

- 190.- Flaherty, J.T., Schaff, H.V., Goldman, R.A., and Gott, V.I.: Metabolic and functional effects of progressive degrees of hypothermia during global ischemia. *Am. J. Physiol.* 236: H839-H845. (1979).
- 191.- Harlan, B.J., Ross, D., Mac Manus, Q., Knight, R., Lubner, J., and Starr, A.: Cardioplegic solutions for myocardial preservation. Analysis of hypothermic arrest, potassium arrest and procaine arrest. *Circulation* 58 (Suppl.I):I-1114-1118. (1978).
- 192.- Balderman, S.C., Binette, J.P., Chen, A., Bhayana, J.N., and Gage, A.: The optimal temperature for preservation of the myocardium during global ischemia. *Ann. Thorac. Surg.*, 35:605-614. (1983).
- 193.- Digerness, S.B., Vanini, V., and Wideman, F.E.: In vitro comparison of oxygen availability from asanguineous and sanguineous cardioplegic media. *Circulation* 64 (Suppl.II):II-80-83. (1981).
- 194.- Takamoto, S., Levine, F.H., LaRaia, P.J., Adziek, N.S., Fallon, J.T., Austen, W.G. and Buckley, M.J.: Comparison of single-dose and multiple-dose crystalloid and blood potassium cardioplegia during prolonged hypothermic aortic occlusion. *J. Thorac. Cardiovas. Surg.*, 79:19-25. (1980).

- 195.- Hearse, P.J. Braimbridge, M.V., and Jynge, P.: Protection on the Ischemic Myocardium: Cardioplegia. New York, Raven Press, p.241-279. (1981).
- 196.- Lamprecht, W. Trautschol, J.: Determination with hexokinase and glucose -6- phosphate de hydrogenase. In Methods of Enzymatic Analysis. Edited by Bergmeger. U. New York. Academic Press., pp.543-610. (1965).
- 197.- Baker, J.E., boerboom, E.L., and Olinger, G.N.: Is protection of ischemic neonatal myocardium by cardioplegia species dependent? J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 99:280-287. (1990).
- 198.- Chiavarelli, M., Chiavarelli, R., Carpi, A., and Marino, B.: Interactions between pharmacological cardioplegia and hypothermia for intraoperative myocardial protection. Ann. Thorac. Sur., 39:218-222. (1985).
- 199.- Dewar, M., Rosengarten, M., Samson, R., Wittnich, C., Blundell, P.E., Chiu, R.C.J.: Is high potassium solution necessary for reinfusions in "Multidose" cold cardioplegia? A randomized prospective study using computerized holter system. Ann. Thorac. Surg., 43:409-415. (1987).
- 200.- Adams, R.J., and Schwartz, A.: Comparative mechanisms for contraction of cardiac and skeletal muscle. Chest, 78:123.

(1980).

- 201.- Frenes, S.E., Weisel, R.D., Mickle, D.A.G., Seawright, S.J., Houle, S., and Baird, R.J.: Myocardial metabolism and ventricular function following cold potassium cardioplegia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 89:531-546. (1985).
- 202.- Bove, E.L., Stammers, A.H.: Recovery of left ventricular function after hypothermic global ischemia: age related differences in the isolated working rabbit heart. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 91:115-123. (1986).
- 203.- Kloner, R.A., Ellis, S.G., Lang, R., Braunwald, E.: Studies of experimental coronary artery reperfusion. Effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation* 68:Suppl., 1:15-18. (1983).
- 204.- Parrish, M., Payne, A., Fixler, D.E.: Global myocardial ischemia in the newborn, juvenile, and adult isolated isovolumic rabbit heart. *Circ. Res.*, 61:609-915. (1987).
- 205.- Hammon, J.W., Graham, T.P., Boncek, R.J., Parrish, M.D., Merrill, W.H., and Bender, H.W.: Myocardial Adenosine Triphosphate content as a measure of metabolic and functional myocardial protection in children undergoing cardiac operation. *Ann. Thorac. Surg.*, 44:467-470. (1987).

- 206.- Reimer, K.A., Hill, M.L., Jennings, R.B.: Prolonged depletion of ATP and of the adenine nucleotide pool due to delayed resynthesis of adenine nucleotides following reversible myocardial ischemic injury in dogs. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 13:229-234. (1981).
- 207.- Pridjian, A.K., Levitsky, S., Krukenkamp, I., Silverman, N.A., Feinberg, H.: Developmental changes in reperfusion injury: comparison of intracellular ion accumulation in ischemic and cardioplegic arrest. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 96:577-581. (1988).
- 208.- Levitsky, S.: Is hypothermic fibrillatory arrest a rational alternative to cardioplegic arrest? *Ann. Thorac. Surg.*, 43:127-128. (1987).
- 209.- Schwalb, H., Izhar, U., Yaroslavsky, E., Borman, J., and Uretzky, G.: The effect of amino acids on the ischemic heart Improvement of oxygenated crystalloid cardioplegia solution by an enriched branched chain acid formulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 98:551-556. (1989).
- 210.- Hendren, W.G., O'Keefe, D.D., Geffin, G.A., Denenberg, A.G., Love, T.R., and Daggett, W.M.: Maximal oxygenation of dilute blood cardioplegic solution. *Ann. Thorac. Surg.*, 44:48-52. (1987).

- 211.- Illes, R.W., Silverman, N.A., Krukenkamp, I.B., Yusen, R.D., Chausow, D.D., and Levitsky, S.: The efficacy of blood cardioplegia is not due to oxygen delivery. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 98:1051-1056. (1989).
- 212.- Guyton, R.A., Dorsey, L.M.A., Craver, J.M., et al: Improved myocardial recovery after cardioplegic arrest with an oxygenated crystalloid solution. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 89:877-892. (1985).
- 213.- Lie, J.T., Pairolero, P.C., Holley, K.E., Titus, J.L.: Macroscopic enzyme mapping verification of large homogeneous, experimental myocardial infarcts of predictable size and location in dogs. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 89:599-605. (1985).
- 214.- Braunwald, E., Kloner, R.A.: The stunned myocardium. Prolonged, post-ischemic ventricular dysfunction. Circulation, 66:1146-1149. (1982).
- 215.- Velardi, A.R., Widmer, S.J., Cilley, J.H., Spence, R.K., Witkowski, T.A., and Del Rossi, A.J.: Right ventricular myocardial protection through intracavitary cooling in cardiac operation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 98:1077-1082. (1989).

- 216.- Busch, LR., Buja, M., Samowitz, W., Rude, RE., Wathen, M., Tilton, GD., Willerson, JT. Recovery of left ventricular segmental function after long-term reperfusion following temporary coronary occlusion in conscious dogs. Comparison of 2 and 4 hour occlusion *Circ Res*, 53:248-263. (1983).
- 217.- Crevey, B.J., Langer, G.A., and Frank, J.S.: Role of Ca^{2+} in mainenance of rabbit myocardial cell membrane structural and functional integrity. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 10:1081-1100. (1978).
- 218.- Lazar, H.L., Wilcox, K., Hankins, T., Plehn, J., and Roberts, A.J.: Effects of left ventricular venting and distention during heterogenous distribution of cardioplegic solution. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:501-507. (1988).
- 219.- Daggett, W.M., Randolph, J.D., Jacobs, M., O'Keefe, D., Geffin, G.A., Swinski, L.A., Boggs, B.R., and Austen, G.: The superiority of cold oxygenated dilute blood cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.*, 43:397-402. (1987).
- 220.- Buckberg, G.D.: Antegrade cardioplegia, retrograde cardioplegia, or both? *Ann. thorac. Surg.*, 45:589-590. (1988).
- 221.- Coetzee, A., Kotze, J., Louw, J., Lochner, A.: Effect of oxygenated crystalloid cardioplegia on the functional and

metabolic recovery of the isolated perfused rat heart. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 91:259-269. (1968).

- 222.- Geffin, G.A., Love, T.R., Hendren, W.G., Torchiana, D.F., Titus, J.S., Redonnett, E., O'Keefe, D.D., and Daggett, W.M.: The effects of calcium and magnesium in hyperkalemic cardioplegic solutions on myocardial preservation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 98:239-250. (1989).
- 223.- Lynch, M.J., Bove, E.L., Zweng, T.N., Fox, M.H., Bolling, S.F., Gallagher, K.P.: Protection of the neonatal heart following normothermic ischemia: A comparison of oxygenated saline and oxygenated versus nonoxygenated cardioplegia. Ann. Thorac. Surg., 45:650-655. (1988).
- 224.- Myers, C.L., Weiss, S.J., Kirsh, M.M., Schlafer, M.: Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the "oxygen paradox": reduction of creatine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine, but not by superoxide dismutase. J. Mol. Cell. Cardiol., 17:675-679. (1985).
- 225.- McCord, J.M.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N. Engl. J. Med., 312:159-163. (1985).
- 226.- Khuri, S., Warner, K.G., Josa, M., Bulter, M., Hayes, A., Harson, R., and Barsamian, E.M.: The superiority of

continuous cold blood cardioplegia in the metabolic protection of the hypertrophied human heart. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 95:442-454. (1988).

- 227.- Watanabe, H., Yokosawa, T., Eguchi, S., Imai, S.: Functional and metabolic protection of the neonatal myocardium from ischemia: insufficient protection by cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 97:50-58. (1989).
- 228.- Nakanishi, T., Jarmakani, J.M.: Developmental changes in myocardial mechanical function and subcellular organelles. Am. J. Physiol., 246:H615-25. (1984).
- 229.- Warner, K.G., Josa, M., Butler, M.D., et al: Regional changes in myocardial acid production during ischemic arrest: a comparison of sanguineous and asanguineous cardioplegia. Ann. Thorac. Surg., 45:75-81. (1988).
- 230.- De Wit, L., Coetzee, A., Kotze, J., Lchner, A.: Oxygen requirements of the isolated rat heart during hypothermic cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 95:310-320. (1988).
- 231.- Masuda, M., Yonenaga, K., Shiki, K., et al.: Myocardial protection by coronary sinus occlusion by retrograde cardioplegic perfusion in dogs: preservation of high-energy phosphates and regional function. J. Thorac. Cardiovasc.

Surg., 92:255-263. (1986).

- 232.- Kempsford, R.D., Hearse, D.J.: Protection of the immature heart. Temperature-dependent beneficial or detrimental effects of multidose cristalloid cardioplegia in the neonatal rabbit heart. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 99:269-279. (1990).
- 233.- Bhayana, J.N., Kalmbach, T., Booth, F.V.L., Mentzer, R.M., and Schimert, S.: Combined antegrade/retrograde cardioplegia for myocardial protection: A clinical trial. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 98:956-960. (1989).
- 234.- Zimmerman, A.N.E., and Hulsman, W.G.: Paradoxical influence to calcium ions on the permeability of the cell membranes of the isolated rat heart. Nature, 211:646. (1966).
- 235.- Alto, L.E., and Dhalla, N.S.: Myocardial cation contents during induction of calcium paradox. Am. J. Physiol., 237:H713-H719. (1979).
- 236.- Grinwald, P.M., and Nayler, W.G.: Calcium entry in the calcium paradox. J. Mol. Cell Cardiol., 13:867-880. (1981).
- 237.- Yamamoto, F., Braimbridge, M.V., and Hearse, D.J.: Calcium and cardioplegia. The optimal calcium content from the St.

Thomas' Hospital cardioplegia solutions. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 87:908-912. (1984).

- 238.- Bove, E.L., Stammers, A.H., Gallagher, K.P.: Protection of the neonatal myocardium during hypothermic ischemia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 94:115-121. (1987).
- 239.- Yano, Y., Braimbridge, M.V., Hearse, D.J.: Protection of the pediatric myocardium. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 94:887-896. (1987).
- 240.- Ganote, C.E., and Kaltenbach, J.P.: Oxygen-induced enzyme release: early events and proposed mechanism. J. Mol. Cell. Cardiol., 11:389-406. (1979).
- 241.- Yamamoto, F., Braimbridge, M.V., Hearse, D.J.: Calcium and cardioplegia: the optimal calcium content for the St. Thomas' Hospital cardioplegic solution. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 87:908-912. (1984).
- 242.- Meissner, G. Henderson, J.S.: Rapid calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles is dependent on Ca^{2+} , adenine nucleotide, and calmodulin. J. Biol. Chem., 262:3065-3073. (1987).
- 243.- Guarnieri, C., Flamingni, F., and Caldara, C.M.: Role of oxygen in cellular damage induced by reoxygenation of

hypoxic heart. J. Mol. Cell. Cardiol. 12:797-808. (1980).

- 244.- Buckberg, G.D.: Strategies and logic of cardioplegic delivery to prevent, avoid, and reverse ischemic and reperfusion damage. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 93:127-139. (1987).
- 245.- Nayler, W.G.: The role of calcium in the ischemic myocardium. Am. J. Pathol., 102:262-270. (1981).
- 246.- Reuter, H.: Exchange of calcium ions in the myocardium. Circ. Res., 34:599-608. (1974).
- 247.- Lansman, J.B., Hess, P., Tsien, R.W.: Blockade of current through single calcium channels by Cd^{2+} , and Ca^{2+} : voltage and concentration dependence of calcium entry into the pore. J. Gen. Physiol., 88:321-347. (1986).
- 248.- Boe, J.L., Dixon, C.M., Sakert, T.A., and Magovern, G.L.: The control of myocardial Ca^{++} sequestration with nifedipine cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 84:678-684. (1982).
- 249.- Melendez, F.J., Gharagozloo, J., Sun, S.C., Benfell, K., Austin, R.R., Shcmin, R.J., and Lawrence, H.C.: Effects of diltiazem cardioplegia on global function, Segmental contractility, and the area of necrosis after acute

- coronary artery occlusion and surgical reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:613-617. (1988).
- 250.- Romson, J.L., Hook, B.G., Kunkel, S.L., Abrams, G.D., Schork, A., and Lucchesi, B.R.: Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*, 67:1016. (1983).
- 251.- Borda, L.J., Schuchleib, R., and Henry, P.D.: Hypoxic contraction of isolated canine coronary artery mediation by potassium-dependent exocytosis of norepinephrine. *Circ. Res.*, 46:870-879. (1980).
- 252.- Del Maestro, R.F., Bjork, J., and Arfors, K.E.: Free radicals and microvascular permeability. In *Pathology of Oxygen*. Edited by A.P. Autor. New York, Academic Press, pp:157-172. (1982).
- 253.- Chambers, D.E., Parks, D.A. Patterson, G.: Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. *J. Mol. Cell. Cardio.*, 17:145-149. (1985).
- 254.- Chambers, D.J., Braimbridge, F.R.C.S., and Hearse, D.J.: Free radicals and cardioplegia: Allopurinol and oxypurinol reduce myocardial injury following ischemic arrest. *Ann. Thorac. Surg.*, 44:291-297. (1987).

- 255.- Charagooloo, F., Melendez, F.J., Hein, R.A., Austin, R.E., Shemin, R.J., Disesa, V.J., and Cohn, L.H.: The effect of oxygen free radical scavengers on the recovery of regional myocardial function after acute coronary occlusion and surgical reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:631-636. (1988).
- 256.- Jynge, P., Hearse, D.J., and Braimbridge, M.V.: Protection of the ischemic myocardium: volume-duration relationships and efficacy of myocardial infusates. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:698-705. (1978).
- 257.- Chitwood, W.R., Sink, J.D., Hill, R.C., Wechsler, A.S., and Sabiston, D.C.: The effects of hypothermia on myocardial oxygen consumption and transmural coronary blood flow in the potassium-arrested heart. *Ann. Surg.*, 190:106-116. (1979).
- 258.- Tyers, G.F.O., Williams, G.H., Hughes, H.C., Jr., and Waldhausen, J.A.: Optimal myocardial hypothermia at 10-15°C. *Surg. Forum*, 27:233. (1976).
- 259.- Henning, H., Jamieson, W.R.E., Davies, C., Lyster, D.M., Ling, H., and Godin, D.: Differential effect of hypothermic chemical cardioplegia on myocardial function perfusion and energetic content. *Circulation*, 62(Suppl.III):III-284. (1980).

- 260.- Webb, W.R., Jones, F.X., Wax, S.D., and Ecker, R.R.: Temperature effects on transmembrane potentials of rat ventricle. *Cryobiology*, 6:235-238. (1968).
- 261.- Griepp, R.B., Stinson, E.B., and Shunway, N.E.: Profound local hypothermia for myocardial protection during open-heart surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 66:731-741. (1973).
- 262.- Barner, H.B., Standeven, J.W., Jellinek, M., Menz, L.J., and Hahn, J.W.: Topical cardiac hypothermia for myocardial preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 73:856-867. (1977).
- 263.- Tabayashi, K., Mc. Kcoun, P.P., Miyamoto, J., Luedtke, A.E., Thomas, R., Allen, M.D., Misbach, G.A., and Ivey, T.D.: Ischemic myocardial protection. Comparison of nonoxygenated crystalloid, oxygenated crystalloid, and oxygenated fluorocarbon cardioplegic solutions. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:239-246. (1988).
- 264.- Reynolds, T.R., Geffin, G.A., Titus, J.S.: Myocardial preservation related to the magnesium content of hyperkalemic cardioplegic solutions at 8°C. *Ann. Thorac. Surg.*, 47:907-913. (1989).
- 265.- Nakamura, Y., Fukamachi, K., Masuda, M., Ason, T., Toshima, Y., Oc, M., Mitani, A., Kinoshita, K., Kawachi, Y., Tanaka,

- J., and Tokunaga, K.: A new method of retrograde cardioplegic administration. Right ventricular protection by right atrial reperfusion cooling. J. thorac. Cardiovasc. Surg., 99:335-344. (1990).
- 266.- Mc. Goon, D.C.: The ongoing quest for ideal myocardial protection. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 89:639-653. (1985).
- 267.- Lazar, H.L., and Rivers, S.: Importance of topical hypothermia during heterogeneous distribution of cardioplegic solution. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 98:251-257. (1989).
- 268.- Zimny, M.L., Romano, C.C., and Hayde, R.: ATPase and succinate dehydrogenase in hearts of hypothermic ground squirrels and rats. Cryobiology, 9:61-65. (1972).
- 269.- Juffé, A., Burgos, R., Montero, C.G., Pradas, G., Tellez, G., and Figuera, D.: Rewarming rate of the myocardium during aortic cross-clamp time: variation with different levels of body hypothermia. Texas Heart Inst. J., 12:401-406. (1985).
- 270.- Hearse, D.J.: Invited letter concerning: Cardioplegia and communication. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 98:289-290. (1989).

- 271.- Ingwall, J.S.: Phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy of cardiac and skeletal muscles. *Am. J. Physiol*, 242:729-744. (1982).
- 272.- Flaherty, J.T., Weisfeldt, M.L., Bulkley, B.M., Gardner, T.J., Gott, V.L., and Jacobus, W.E.: Mechanisms of ischemia myocardial cell damage assessed by phosphorus -31 nuclear magnetic resonance. *Circulation*, 29:561-571. (1984).
- 273.- Whitman, G.J.R., Nieval, R.S., Seelolzer, S., McDonald, G., Simson, M.B., and Harken, A.H.: Recovery of left ventricular function after graded cardiac ischemia as predicted by myocardial P-31 nuclear magnetic resonance. *Surgery*, 97:428-435. (1985).
- 274.- Pernot, A., Ingwall, J.S., Menasche, P., Grausser, C., Bercot, M., Piwnica, A., and Fossel, B.T.: Evaluation of high-energy phosphate metabolism during cardioplegic arrest and reperfusion: a phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study. *Circulation*, 67:1296-1303. (1983).
- 275.- Deuvaert, F.E., Cohn, L.H., and Collins, J.J.: The detection of ischemic myocardium by surface pH measurements. *Surgery*, 74:437-443. (1973).
- 276.- Knoll, D., Korchloff, P.G., Nordbeck, H., Orellano, L., Rodke, J., Regens-burger, D., Schaper, J., Schiemming, J.,

- H., and Spieckermann, P.C.: Comparison of tolerance to ischemia in human and animal myocardium during various forms of induced arrest. *Thoraxchirurgie*, 23:313-317. (1975).
- 277.- Randolph, J.D., Toal, K.W., Geffin, G.A., et al: Improved myocardial preservation with oxygenated cardioplegic solutions as reflected by on-line monitoring of intramyocardial pH during arrest. *J. Vasc. Surg.*, 3:216-219. (1986).
- 278.- Benzing, H., Gebert, O., and Strohm, M.: Extracellular acid-base changes in the dog myocardium during hypoxia and local ischemia, measured by means of glass microelectrodes. *Cardiology*, 56:85-88. (1977).
- 279.- Gebert, G., Benzing, H., and Strohm, H.: Changes in the interstitial pH of dog myocardium in response to local ischemia, hypoxia, hyper and hypocapnia, measured continuously by means of glass microelectrodes. *Pfluegers Arch.*, 329:72-81. (1971).
- 280.- Hicks, G.L., Hill, A., and DeWeese, J.A.: Monitoring of midmyocardial and subendocardial pH in normal and ischemic ventricles. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 72:52-56. (1976).

- 281.- Tait, G.A., Young, R.B., Wilson, G.J., Stevens, D.J., and McGregor, D.C.: Myocardial pH during regional ischemia: evaluation of a fiberoptic photometric probe. *Am. J. Physiol.*, 243(Heart Circ Physiol 12):H1027-H1031. (1982).
- 282.- Das, J.B., Joshi, I.D., and Phillipport, A.I.: Continuous monitoring of pH in the tissue mode: evaluation of a miniature sensor during acidosis and tissue hypoperfusion. *J. Pediatr. Surg.*, 18:914-921. (1983).
- 283.- Cobbe, S.M., and Poole-Wilson, P.A.: The time of onset and severity of acidosis in myocardial ischemia. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 12:745-760. (1980).
- 284.- Watson, R.M. Markle, O.R., Ro. Y.M., Goldstein, S.R., McQuire, D.A., Peterson, J.I., and Patterson, R.E.: Transmural pH gradient in canine myocardial ischemia. *Am. J. Physiol.*, 246:H223-H238. (1984).
- 285.- Markle, O.R., McGuire, D.A., Goldstein, S.R., Patterson, R.E. and Watson, R.M.: A pH measurement system for use in tissue. (1981).
- 286.- Walters, F.J.M., Wilson, G.J., Steward, D.J., Damenech, R.J., and MacGregor, D.C.: Intramyocardial pH as an index of myocardial metabolism during cardiac surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 78:319-330. (1979).

- 287.- Lange, R., Kloner, R.A., Zierler, M., Carlson, N., Seiler, M., and Khuri, S.F.: Time course of ischemic alterations during normothermic and hypothermic arrest and its reflection by on-line monitoring of tissue pH. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 86:418-434. (1983).
- 288.- Murphy, C.E., Salter, D.R., Morris, J.J., Goldstein, J.P., Wechsler, A.S., Abd-Elfattah, A.S.: Age-related differences in adenine nucleotide metabolism during in vivo global ischemia. *Surg. Forum.*, 37:288-290. (1986).
- 289.- Nassar, R., Reedy, M.C., Anderson, P.A.W.: Developmental changes in the ultrastructure and sarcomere shortening of the isolated rabbit ventricular myocyte. *Circ. Res.*, 61:465-483. (1987).
- 290.- Ledingham, S.J.M., Brambridge, M.V., and Hearse, D.J.: Improved myocardial protection by oxygenation of the St Thomas' Hospital cardioplegic solutions. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:103-111. (1988).
- 291.- Magovern, J.A., Pae, W.E., Miller, c.A., and Waldhausen, J.A.: The immature and the mature myocardium. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 95:618-624. (1988).

- 292.- Konishi, T., and Apstein, C.S.: Comparison of three cardioplegic solutions during hypothermic ischemic arrest in neonatal blood-perfused rabbit hearts. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 98:1132-1137. (1989).
- 293.- Aldea, G.S., Austin, R.E., Flynn, A.E., Coggins, D.L., Hussein, W., and Hoffman, J.I.E.: Heterogeneous delivery of cardioplegic solution in the absence of coronary artery disease. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 99:345-353. (1990).
- 294.- Rhan, H., Reeves, R.B., and Howell, B.J.: Hydrogen ion, temperature, and evolution. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 12:165-172. (1975).
- 295.- Wescott, C.C.: pH Measurements. New York, Academic Press, pp.1-103. (1978).
- 296.- Martin, D.R., Scott, D.F., Downes, G.L., and Belzer, P.O.: Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann. Surg.*, 175:111-117. (1972).
- 297.- Baker, J.E., and Hearse, D.J.: Comparison of the ability of slow channel calcium blockers to reduce tissue damage during the calcium paradox in the rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 13(Suppl.1):6. (1981).
- 298.- Shine, K.I., Douglas, A.M., and Riechuiti, N.V.: Calcium, strontium, and barium movements during ischemia and

reperfusion in rabbit ventricle-implications for myocardial preservation. *Circ. Res.*, 43:712. (1978).

- 299.- Hendriks, F.F.A., Jonas, J., Van Der Laarse, A., Huysmans, H.A., Van Rijk-Zwikker, G.L. and Schipperheyn, J.J.: Cold ischemic arrest: comparison of calcium-free and calcium-containing solutions. *Ann. Thorac. Surg.*, 39:312-317. (1985).
- 300.- Magee, P.G., Flaherty, J.T., Bixler, T.J., Glower, G., Gardner, T.J., Bulkley, B.H., and Gott, V.L.: Comparison of myocardial protection with nifedipine and potassium. *Circulation*, 60(Suppl.I):I-151-157. (1979).
- 301.- Roe, B.B., Hutchinson, J.C., Fishman, N.H., Ulliot, D.J., and Smith, D.L.: Myocardial protection with cold ischemic, potassium-induced cardioplegia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 73:366-374. (1979).
- 302.- Engleman, R.M., Dobbs, W.A., Rousopu, J.H., and Lemeshow, S.: The optimal potassium concentration in a cardioplegic solution. In *Proceedings Symposium Cardioplegia: The First Quarter Century*. *Proc. R. Soc. London*, pp.89-90. (1980).
- 303.- Jellinek, M., Standeven, J.W., Menz, L.J., Hahn, J.W. and Barner, H.B.: Cold blood potassium cardioplegia-effects of increasing concentrations of potassium. *J. Thorac.*

Cardiovasc. Surg., 82:26-37. (1981).

- 304.- Rousou, J.H., Engelman, R.M., Dobbs, W.A., and Lemeshow, S.: The optimal potassium concentration in cardioplegic solution. *Ann. Thorac. Surg.*, 32:75. (1981).
- 305.- Ellis, R.J., Gertz, E.W., Wisneski, J., and Ebert, P.A.: Mild ventricular dysfunction following cold potassium cardioplegia. *Circulation*, 60(Suppl.I):I147. (1979).
- 306.- Rich, T., and Brady, A.J.: Potassium contraction and utilization of high-energy phosphates in rabbit heart. *Am. J. Physiol.*, 226:105-113. (1974).
- 307.- Schubert, T., Vetter, H., Owen, P., Reichart, B., and Opie, L.H.: Adenosine cardioplegia. Adenosine versus potassium cardioplegia: Effects on cardiac arrest and postischemic recovery in the isolated rat heart. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 98:1057-1065. (1989).
- 308.- Wakabayashi, a., Nishi, T., and Guilmette, J.E.: Experimental evaluation of magnesium cardioplegia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 84:685-688. (1982).
- 309.- Jamieson, W.R.E., Tomlinson, C.W., McConville, B., Opie, J.C., Henning, H., Qayumi, K., and Van den Broek, J.: Reperfusion injury-calcium entry blockade and high

magnesium cardioplegia. Clin. Res., 33:90A. (1985).

310.- Jamieson, W.R.E., Tomlinson, C.W., McConville, B., Opie, J.C., Henning, H., Qayumi, K., and Van den Broek, J.: Alteration of calcium flux with calcium-entry blockers and high magnesium to prevent reperfusion injury. Ann. R. Coll. Phys. Surg. Can. (1984).

311.- Flameng, W., Van Der Vusse, G.T., De Meyere, R., Borgers, M., Sergeant, P., Vander Meersch, E., Geboers, J., and Suy, R.: Intermittent aortic cross-clamping versus St. Thomas Hospital cardioplegia in extensive aorta-coronary bypass grafting-a randomized clinical study. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 88:164-173. (1984).

312.- Robinson, L.A., Braimbridge, M.V., and Hearse, D.J.: Comparison of the protective properties of four clinical crystalloid cardioplegic solutions in the rat heart. Ann. Thorac. Surg., 38:268-274. (1984).

313.- Robinson, L.A., Braimbridge, M.V., and Hearse, D.J.: The potential hazard of particulate contamination of cardioplegic solutions. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 87:48-58. (1984).

314.- Flameng, W., Daenen, W., and Borgers, M.: Cardioprotective effects of lidoflazine during one hour of normothermic

global ischemia. *Circulation*, 64:796. (1981).

- 315.- Starnes, V.A., Hammond, J.W., Jr., Lupinetti, F.M., Olson, R.D., Boucek, R.J.Jr., and Bender, H.W.: Functional and metabolic preservation of the immature myocardium with verapamil following global ischemia. *Ann. Thorac. Surg.*, 34:58-64. (1982).
- 316.- Vouhe, P.R., Helias, J., and Groundin, C.M.: Myocardial protection through cold cardioplegia using diltiazem, a calcium channel blocker. *Ann. Thorac. Surg.*, 30:342-347. (1980).
- 317.- Weishaar, R., Ashikawa, K., and Bing, R.J.: Effect of diltiazem, a calcium antagonist, on myocardial ischemia. *Am. J. Cardiol.*, 33:1137-1143. (1979).
- 318.- Ashraf, M., Onda, M., Benedict, J.B., and Millard, R.W.: Prevention of calcium paradox-related myocardial cell injury with diltiazem, an calcium-channel blocking agent. *Am. J. Cardiol.*, 49:1675-1681. (1982).
- 319.- Balderman, S.C., Chan, A.K., and Gage, A.A.: Verapamil cardioplegia: improved myocardial preservation during global ischemia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 88:57-66. (1984).

- 320.- Barner, H.B., Jellinek, M., Standevan, J.W., Menz, L.J., and Hahn, J.W.: Cold blood-diltiazem cardioplegia. *Ann. Thorac. Surg.*, 33:55. (1982).
- 321.- Jamieson, W.R.E., Jyrala, A.J., Qayumi, K., Tomlinson, C.W., McConville, B., Lyster, D.M., Alladina, N., and Van den Broek, J.: Enhanced myocardial protection with calcium antagonist in blood cardioplegia. *Circulation, (Cardiovas. Surg.)*. (1986).
- 322.- Jyrala, A.J., Jamieson, W.R.E., Qayumi, K., Tomlinson, C.W., Tyers, G.F.O., Alladina, N., and Van den Broek, J.: Calcium antagonist (verapamil) in blood cardioplegia. *Clin. Invest. Med.*, 8:A49. (1985).
- 323.- Clark, R.E., Christlieb, I.Y., Ferguson, T.B., Weldon, C.S., Marbager, J.P., Biello, D.R., Roberts, R., Ludbrook, P.A., and Sobel, B.E.: The first American clinical trial of nifedipine in cardioplegia-a report of the first 12 month experience. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 82:848-859. (1981).
- 324.- Clark, R.E., Christlieb, I.Y., Ferguson, T.B., Weldon, C.S., Marbarger, J.P., Sobel, B.E., Roberts, R., Henry, P.D., Ludbrook, P.A., Biello, D., and Clark, B.K.: Laboratory and initial clinical studies of nifedipine, a calcium antagonist for improved myocardial preservation.

Ann. Surg., 193:719-723. (1981).

- 325.- Clark, R.E., Christlieb, I.Y. Vanderwonde, J.C., and Henry, P.D.: Use of nifedipine to decrease ischemic-reperfusion injury in the surgical setting. Am. J. Cardiol., 55:125B-138B. (1985).
- 326.- Clark, R.E., Magovern, G.J., Christlieb, I.Y., and Boe, S.: Nifedipine cardioplegia experience: results of a 3-year cooperative clinical study. Ann. Thorac. Surg., 36:654-663. (1983).
- 327.- Glyton, R.A., Doosey, L.M., Colgan, T.K., and Hatcher, C.R., Jr.: Calcium-channel blockade as an adjunct to heterogeneous delivery of cardioplegia. Ann. Thorac. Surg., 35:626-632. (1983).
- 328.- Henry, P.D., Shuchlieb, R., Weiss, E.S., Hoffman, E., Roberts, R., and Sobel, B.: Protection of the ischemic myocardium in conscious dogs with nifedipine. Am. J. Cardiol., 37:142. (1976).
- 329.- Henry, P.D.: Comparative pharmacology of calcium antagonists: nifedipine, verapamil, diltiazem. Am. J. Cardiol., 46:1047. (1980).
- 330.- Hicks, G.L., Jr., and DeWeese, J.A.: Verapanil potassium cardioplegia and cardiac condition. Ann. Thorac. Surg., 39:324-328. (1985).

- 331.- Jamieson, W.R.E., Hamilton, L.B., Thompson, A.D., Mahn, D.N., Mills, R.K., Janusz, M.T., and Turnbull, K.W.: Preliminary clinical evaluation of verapamil cardioplegia. Proceedings of the International Symposium on Cardioprotection. Quo Vadis, European Society of Cardiology, 1982. (1983).
- 332.- Jamieson, W.R.E., Henning, H., Davies, C.A., Ling, H., Turnbull, K.W., and Manning, G.T.: Calcium antagonist cardioplegia for prevention of reperfusion injury-experimental and clinical documentation. Canadian Cardiovascular Society. (1983).
- 333.- Jamieson, W.R.E., Henning, H., Ling, H., Davies, C.A., Lyster, D.M., Sprangers, M.A., Matiets, M.A., and Van den Broek, J.: Prevention of reperfusion injury by verapamil after hypothermic cardioplegia. J. Cardiovasc. Thorac. Surg., (in press). (1986).
- 334.- Lupinetti, F.M., Hammon, J.W., Jr., Huddleston, C.B., Boucek, R.J., Jr., and Bender, H.W., Jr.: Global ischemia in the immature canine ventricle. Enhanced protective effect of verapamil and potassium. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 87:213-219. (1984).
- 335.- Magovern, G.J., Dixon, C.M. and Burkholder, J.A.: Improved myocardial protection with infedipine and potassium-based

cardioplegia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 82:239-244.
(1981).

336.- Nayler, W.G., Ferrari, R., and Williams, A.: The protective effect of pretreatment with verapamil, nifedipine, and propranolol on mitochondrial function in the ischemic and reperfused myocardium. Am. J. Cardiol., 46:242-248. (1980).

337.- Nayler, W.G., and Grinwald, P.M.: The effect of verapamil on calcium accumulation during the calcium paradox. J. Mol. Cell. Cardiol., 13:435-441. (1981).

338.- Nayler, W.G.: Cardioprotective effects of calcium ion antagonists in myocardial ischemia. Clin. Invest. Med., 3:91-99. (1980).

Fe de erratas

	<u>Dice</u>	<u>Debe decir</u>
Página 95-Línea 15	60-90120	60-120-180
" 98- Línea 7	cosiana	eosina
" 109- Línea 1	2.7/82818	2.7182812
" 155- Línea 16	de la	la
" 174- Línea 20	25% \pm 6	35% \pm 6